



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

**COMPARACIÓN DE LA FERMENTACIÓN Y
ADHERENCIA DE *Streptococcus mutans* EN
PRESENCIA DE SACAROSA, STEVIA Y
XILITOL *IN VITRO***

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

CIRUJANO DENTISTA

PRESENTA

DANTE DAVID FLORES ALEGRE

DIRECTOR DE TESIS

**DR. MARÍA TERESA DE JESÚS ZARAGOZA
MNESES**

Ciudad de México, 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatoria

"Me esforzaré aún más para proseguir con esta investigación, una investigación que yo confío que no será meramente especulativa, si no de suficiente empuje para inspirar la agradable esperanza de que se convierta en algo esencialmente beneficioso para la humanidad "

- Edwar Jenner

Quisiera dedicar en primera medida este trabajo a la humanidad que a través del conocimiento hemos encontrado la victoria ante las preguntas, que a través de la unidad hemos encontrado la paz. En estos tiempos difíciles donde debemos estar juntos para levantarnos, donde debemos estar juntos para prevalecer, hasta observar en el alba un nuevo amanecer. En esta tierra la cual amo, en esta era donde vivo y en esta universidad que me ha formado. Donde el honor, el valor y la lealtad son un faro de luz para quien busca la verdad. Hoy, mañana y siempre.

"Por mi raza hablará el espíritu"

Agradecimiento

Agradezco profundamente a mis padres por ayudarme en todo el camino recorrido, nunca me faltó nada porque todo me dieron ustedes. Gracias mamá por darme tu tenacidad y gracias papá por darme tu paciencia.

Le agradezco a mis hermanos por ser los primeros en demostrarme lo tan lejos que se puede llegar con el esfuerzo y la dedicación. Acudí a cada una de sus graduaciones, en cierto modo visualicé como sería ese día para mí, en como sería la conclusión de una carrera que no parecía terminar.

Agradezco a la Dra. María Teresa de Jesús Zaragoza Méndez al crear un camino por el cual el odontólogo explota esa inquietud científica al descubrir nuevas cosas o como se le conoce el Laboratorio de Investigación en Odontología de la FES Zaragoza UNAM, era lo que yo necesitaba en el momento correcto.

Muchas gracias a mis primeros mentores, a la Dra. Liliana y a la Dra. Yuliana, que fueron esas almas jóvenes capaces de impulsar a mi yo de hace algunos años, crearon un efecto mariposa inigualable. Espero nunca cambien y donde quiera que estén sigan motivando con sus clases.

Gracias a la C.D. Buendía Martínez Diana María quien apoyó al proyecto en el momento que más se necesitó. A la MTRA Taboada Aranza Olga quien siempre tuvo la paciencia para enseñar como aprender en sus clases. Al MTRO Aguirre González Jorge Balduino quien siempre trataba de ayudar en las clases de clínica. A la C.D: Hernández Alonso Fabiola Adriana cuyas clases eran una puerta abierta al conocimiento al hacerlas tan amenas.

En memoria del Dr. Marroquín Segura Rubén, quien apoyó el proyecto lo más que pudo, siempre con la intención de enseñar como lo hacía en sus clases.

Indice

Capítulo 1. Introducción	1
Capítulo 2. Marco teórico	2
Capítulo 3. Planteamiento del problema	43
Capítulo 4. Objetivo	44
Capítulo 5. Metodología	45
Capítulo 6. Técnica	47
Capítulo 7. Resultados	57
Capítulo 8. Discusión	60
Capítulo 9. Conclusiones	62
Bibliografía	63

Capítulo 1. Introducción

La caries dental es una de las enfermedades más comunes a nivel mundial, un importante problema de salud bucal en la mayoría de los países industrializados y la causa de pérdida dental más frecuente.

Es una enfermedad multifactorial, entre los factores de riesgo más investigados se encuentran 1) la susceptibilidad de las personas: como por ejemplo periodos de infección en las primera etapas, 2) los microorganismos, como el *Streptococcus mutans*; por sus tan variables características que favorecen la entrada a microorganismos posteriores, y 3) el consumo alto en carbohidratos; el cual en sociedades industrializadas se puede obtener fácilmente y en cantidades exorbitante.

La búsqueda de una posible solución a un problema tan complejo como lo es la caries pareciera imposible, sea buscado la eliminación física y restauración de los tejidos afectados en el diente para eliminar la caries. El desarrollo tecnológico nos ha permitido buscar las posibles soluciones para la caries más haya de su restauración, desde la creación de pastas dentales para problemas específicos y ahora endulzantes como el caso del Xilitol y el Stevia con características más benéficas para la salud general de las personas motivo de la investigación presente.

Capítulo 2. Marco teórico

Ecología de la cavidad bucal

Los microorganismos influyen extensamente en la vida y constituyen tanto física como químicamente parte de nuestro planeta. Son los encargados de los ciclos de los elementos químicos indispensables para la vida, incluidos carbono, nitrógeno, azufre, hidrógeno y oxígeno; además, los microorganismos realizan más fotosíntesis que las plantas verdes. Se calcula que en la tierra existen 5×10^{30} células microbianas; excluyendo a la celulosa, éstas constituyen 90% de la biomasa de toda la biosfera. Los seres humanos tienen una relación estrecha con los microorganismos; más de 90% de las células del cuerpo corresponde a microbios.

El término “microflora normal o microbiota” se refiere a la población de microorganismos que habita en la piel y mucosas de las personas sanas. La investigación ha demostrado que esta “flora normal” ahora conocida como “microbiota normal” proporciona la primera línea de defensa contra los microorganismos patógenos, ayuda a la digestión, participa en la degradación de toxinas y contribuye a la maduración del sistema inmunitario. Los cambios en esta microbiota normal, o la inflamación que incitan estos comensales, generan enfermedades.⁽¹⁾

La ecología comprende las relaciones entre los microorganismos y el ambiente. La cavidad bucal se considera un ambiente y sus propiedades influyen, en la composición y la actividad de los microorganismos que se encuentran en ella. El sitio donde los microorganismos crecen es el hábitat, los microorganismos que crecen y se desarrollan en un hábitat particular constituyen una comunidad microbiana, formada por especies

individuales. La comunidad en su hábitat específico, junto con los elementos abióticos, con los cuales los microorganismos están asociados, constituyen un ecosistema.

La cavidad bucal es un ecosistema abierto y dinámico; expuesto a numerosos factores, que condicionan las características y la composición microbiana de los diversos ecosistemas primarios bucales, los factores son:

- Variabilidad. Se refiere a que los ecosistemas presentan diferencias cualitativas y cuantitativas entre sí.
- Heterogeneidad. Se refiere a la gran diversidad de especies que pueden aislarse en los diferentes ecosistemas.
- Cantidad. Debido al fácil acceso de los microorganismos a la cavidad bucal, se comprende que su cantidad sea muy elevada; además están muy concentrados en un espacio relativamente pequeño.
- Especificidad. Algunos microorganismos, tienen una tendencia especial a colonizar determinadas superficies bucales.

La cavidad bucal es un ecosistema que se encuentra compuesto en su gran mayoría por bacterias; con una interacción dinámica, la cual varía de persona a persona e incluso en el mismo individuo, a lo largo del día los nutrientes y microorganismos son introducidos y retirados en muchas ocasiones.

Con el fin de identificar los determinantes ecológicos claves e influyen en los patrones de colonización, es necesario comprender ciertas características de la cavidad bucal. ⁽²⁾

La boca está continuamente bañada por la saliva, manteniendo una temperatura de 35-36°C a un pH de 7.4 ^(3,4) condiciones óptimas para el crecimiento de muchos microorganismos.

La microflora normal de la cavidad bucal es muy variable y depende de varios factores, por ejemplo; del lugar en la que se analice, varía mucho incluso en zonas muy próximas. Las superficies de la cavidad bucal están siendo constantemente colonizadas por

microorganismos. La saliva influye profundamente en la ecología de la boca. Contiene componentes de la inmunidad innata y adquirida lo que le da la capacidad de inhibir directamente algunos microorganismos exógenos). Un mililitro de saliva puede contener más de 100 millones de microorganismos y se ha llegado a identificar más de 700 especies.⁽⁵⁾

Los *Streptococcus* constituyen una parte esencial de la microflora bucal, en los cultivos representan del 20 al 30 % del total de las bacterias.⁽²⁾

Antes de los 6 meses la flora es aerobia, Gram positiva, con predominio de cocos y pocos requerimientos nutricionales. La aparición de los dientes influye radicalmente en la composición de la flora bucal por cuanto se hacen evidentes microambientes no existentes hasta el momento, como son los surcos gingivales en donde hay ausencia de oxígeno y las superficies lisas de los dientes, después del desarrollo de las piezas dentarias en el niño se establecen varias especies contribuyendo a la formación del biopelícula.⁽⁶⁾

La descamación del epitelio evita la acumulación de bacterias a diferencia de las superficies dentales donde se acumula. En la corona destacan, por su importancia ecológica, las zonas retentivas de las áreas de contacto con las encías, las superficies oclusales, donde se encuentra el sistema de surcos, fosas y fisuras, y los espacios proximales o interproximales. De forma especial, la corona dental es un auténtico ecosistema primario de las superficies dentarias; en el curso de horas se recubre por la película adquirida y poco después ésta es colonizada por bacterias bucales que inician la formación de placa o biopelícula tema que revisaremos más adelante a profundidad en esta investigación.

Circuito de infección

Parece una paradoja que una madre pueda exponer a su bebé por el contacto íntimo a los microorganismos infecciosos al mismo tiempo que le transfiere una cantidad de diversos anticuerpos por la leche con que lo amamanta, los cuales confieren inmunidad contra los mismísimos microbios que la infectaron a ella durante el embarazo.⁽⁷⁾

La inmunidad en el recién nacido es una inmunidad pasiva, que está dada por la madre a través de la placenta y después del parto entran en juego el calostro y la leche materna. La Ig A constituye la protección contra la adherencia y colonización microbiana en la cavidad bucal, trayendo como consecuencia la reducción de la probabilidad de ciertas enfermedades bacterianas, micóticas y virales, así como la reducción de enfermedades sistémicas, cuyos agentes etiológicos ingresan por la boca, como la diarrea, infecciones respiratorias, otitis del oído medio y vías urinarias. ⁽⁸⁾

La cavidad bucal es un sistema ecológico complejo debido a sus características anatómicas, fisiológicas y a la variedad de las poblaciones microbianas. La flora bucal es extraordinariamente compleja. ⁽⁹⁾

La mayor parte tendría la característica de ser transitoria, de tal forma que como residente solo quedarían unas 20 aproximadamente. Cabe resaltar este hecho ya que es de importancia para esta investigación.

Los miembros de la microflora transitoria por lo general tienen poca importancia siempre y cuando la microflora normal permanezca intacta. Sin embargo, cuando la microflora normal cambia, estos microorganismos transitorios colonizan, proliferan y generan enfermedades. ⁽¹⁾

La fuente de la mayor parte de las infecciones humanas se encuentra fuera del huésped, la exposición al ambiente u otros huéspedes infectados constituye un factor fundamental. ⁽¹⁰⁾

Para que se establezca la infección y la enfermedad son importantes tanto características del huésped como del agente. ⁽¹¹⁾

El factor más importante en la patogénesis de la caries dental es la capacidad de un gran número de bacterias bucales de producir ácido de los carbohidratos de la dieta. En una investigación se aislaron varios grupos de microorganismos bucales que eran acidogénicos, concluyéndose que ningún único grupo o especie puede ser responsable de la caries dental, en cambio muchas o todas las bacterias acidogénicas si se deben considerar responsables. ⁽¹²⁾

Este concepto de una etiología multibacteriana de la caries dental ha sido posteriormente apoyado por otros autores. El número de microorganismos acidogénicos es mayor en grupos con alta actividad de caries, al examinar la placa bacteriana, comparando con grupos de baja actividad de caries.⁽¹³⁾

La capacidad de producir ácidos varía en diferentes especies bacterianas, las bacterias acidogénicas usualmente encontradas en gran número son: *Streptococcus*, *Lactobacilos*, *Actinomyces* y *Levaduras*, entre ellas el *Streptococcus mutans* el más acidogénico, por eso se afirma que, de la gran cantidad de microorganismos presentes en la cavidad bucal, el género mayormente implicado como causante de caries es el *Streptococcus mutans*.⁽¹⁴⁾ Siendo este último uno de los principales microorganismos investigaremos, lo retomaremos a profundidad más adelante.

Colonización a la Infección

Los factores que pueden intervenir en la adquisición de *Streptococcus mutans* en la boca de los niños han sido muy estudiados, pero siguen sin estar claramente definidos, como también resulta controvertida la de limitación del periodo de colonización inicial. Los niños se encuentran libres de gérmenes en el útero.⁽¹⁾

Adquieren los primeros microorganismos en el proceso del nacimiento al pasar por el canal del parto.⁽⁶⁾ y al respirar por primera vez adquiriéndolos del medio ambiente, siendo esta colonización inicial fortuita.⁽⁸⁾

Entre los microorganismos predominantes en el tracto vaginal se encuentran *Streptococcus*, *Estafilococos*, *Enterobacterias*, *Neisserias* y *levaduras*. Entonces se pueden aislar Corinebacterias, *Lactobacilos*, *Coliformes* y *Cocos* anaerobios facultativos, anaerobios estrictos y algunas veces protozoos.⁽⁶⁾

Aunque la mayor parte de estos no llega a establecerse. Durante el proceso del nacimiento el bebé adquiere entre otros el bacilo de *Doderlein* semejante al *Lactobacilo*⁽¹⁵⁾ que forma parte de la microflora vaginal normal.

En un principio la microflora es simple y generalmente aerobias (cocos Gram positivas). También pueden establecerse inicialmente algunos anaerobios, aunque todavía no hay espacio suficiente donde se creen condiciones de anaerobiosis. Las anaerobias se suman cuando aparecen los primeros dientes. Recientes investigaciones han encontrado bacterias Gram negativas antes de los 6 meses.⁽¹⁶⁾

Anteriormente se sostenía que aparecían después de la erupción de los primeros dientes. Esto se explica por cooperación de bacterias: sobre las anaerobias habría aerobias. Esta colonización lo acompañará durante toda la vida con sucesión constante de microorganismos.

Durante los tres primeros días de vida del recién nacido los microorganismos pioneros predominantes que colonizan la cavidad bucal son los *Streptococcus*, en particular el *Streptococcus salivarius*, el *Streptococcus mitis* y el *Streptococcus oralis*.

El establecimiento de la microflora bucal autóctona se inicia en esos primeros días y beneficia al huésped de varias maneras. En primer lugar, provee protección de especies bacterianas similares, pero más patógenas. En segundo lugar, es una barrera para la colonización de bacterias más virulentas a través de la inhibición espacial de potenciales sitios de adhesión, competencia fisiológica de nutrientes, y por la producción de sustancias inhibitorias.⁽¹⁷⁾

No todos los microorganismos se encuentran en toda la superficie bucal. Factor importante para tomar a consideración en este trabajo, al únicamente trabajar con el microorganismos más investigado en esta área.

Por ejemplo, *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sanguis* se localizan en las superficies duras como la corona dental; en cambio el *Streptococcus Sanguisse* desarrolla principalmente en el dorso de la lengua, pero no en los dientes. Sin embargo, estudios más recientes indican que los *Streptococcus mutans* pueden colonizar las bocas del infantes predestado,⁽¹⁸⁾ Tanner y colab usaron pruebas de ADN e informaron que el *Streptococcus mutans* presente en un 55% en placa dental y que se encontraba en un 70% en una muestra de raspado de lengua de 57 niños entre 6 y 18 meses de edad. Lo que sugiere que la lengua

es un potencial reservorio microbiano. ⁽¹⁹⁾ Esto pone en duda de si el *Streptococcus mutans* necesita una superficie dura para colonizar.

Los primeros que lo hacen son los *Streptococcus mitis*, *ralis* y *salivarius* que colonizan la lengua y mucosas y suelen aparecer de manera constante y en alto número. Existe evidencia de que otras bacterias pueden entrar en la cavidad bucal, pero no pueden competir con las bacterias ya establecidas, entre estas encontramos los lactobacilos de origen fecal y el propio *Streptococcus mutans* (antes de la erupción dentaria). ⁽⁶⁾

La boca del bebe contiene solo las superficies mucosas expuestas al flujo de los fluidos salivales, *Streptococcus mutans* podrían mantenerse en un entorno mediante la formación de colonias adherentes en las superficies mucosas o libremente en la saliva y multiplicándose a una velocidad que excede la tasa de lavado causada por el flujo salival. Debido a que el promedio de la microflora bucal es de dos a cuatro divisiones por día y la deglución se produce cada poco segundos, es razonable suponer que las bacterias no pueden mantenerse libremente en la saliva solo por la proliferación, sino que deben apegarse a una superficie bucal. Estudios han demostrado que los *Streptococcus mutans* tienen una escasa capacidad de apegarse a las superficies epiteliales. ⁽¹⁸⁾

El *Streptococcus mutans*, siendo el más peligroso para los tejidos duros, es el de más difícil adquisición y necesita una importante inoculación. ⁽⁸⁾

Lo cierto es que la erupción dental trae cambios ecológicos muy significativos en la cavidad bucal, se introduce un nuevo hábitat para la microflora: se trata de las superficies libres, fosas y fisuras, surco gingival de las piezas dentarias en erupción. Este evento fisiológico crea condiciones apropiadas para el desarrollo de nuevas especies de microorganismos que deben adherirse a superficies duras para colonizar. Entre estos microorganismos, la presencia de *Streptococcus mutans* y *sobrinus* es necesaria pero no suficiente para el desarrollo de la caries dental. ^(7,20)

Esta capacidad de adherirse, representan un factor de patogenicidad muy grande pues ahora estas bacterias tienen la capacidad de evadir los principales mecanismos de defensa del hospedador, los mecánicos, que antes los desprendían de las superficies epiteliales y

terminaban siendo deglutidos. Los números y tipos de bacterias anaeróbicas que pueden aislarse también aumentan en estos momentos.⁽¹⁵⁾

Así también, durante esta etapa de la vida del niño ocurren otros hechos que tienen impacto directo en la composición de la microflora bacteriana bucal. Las glándulas salivares llegan a su madurez y en consecuencia la cantidad de saliva aumenta.^(15,21)

A medida que va creciendo, el niño toma contacto con diferentes personas y objetos que lo exponen a diversos microorganismos, algunos de estos se establecen como microflora comensal del individuo. La transmisión ocurre de forma horizontal como vertical. Las evidencias científicas han determinado que la relación entre el *Streptococcus mutans* y la caries dental en humanos puede ser considerada como de asociación más no de causalidad.
(22)

Existe evidencia de que la adquisición temprana de *Streptococcus* del grupo Mutans y preferentemente *Streptococcus mutans*, constituye un factor de riesgo de producir a futuro una alta experiencia de caries. Estudios bacteriológicos han encontrado un gran aumento en el recuento de *Streptococcus mutans* en pacientes con alta actividad de caries. Esto no lo coloca como el único agente bacteriano asociado a ella, pero sí como el más importante. Se ha demostrado una relación entre la adquisición temprana de la microflora cariogénica (*Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* y *Lactobacilo*) y un aumento en el riesgo de desarrollar caries dental. Los *Streptococcus mutans* típicamente constituyen menos del 0,1% de la microflora de la placa bacteriana en niños sin actividad de caries evidente. Por el contrario, estos estudios bacteriológicos han demostrado que en niños con ECC la cantidad de estas bacterias regularmente excede el 30% de la microflora cultivable de la placa.⁽²⁾

Este denso nivel de infección dental está asociado con lesiones cariosas cavitadas, lesiones de mancha blanca y superficies dentales irregulares cerca de las zonas afectadas. La presencia del microorganismo no justifica el establecimiento ni el desarrollo de enfermedad, sino que otros factores como la virulencia, acidogenicidad o aciduricidad estarían involucrados.⁽⁸⁾

Por tratarse de una enfermedad con un componente infeccioso importante, el entendimiento de las vías de transmisión que siguen estos microorganismos para pasar de un huésped a otro, es crucial para comprender la caries dental como proceso y así incrementar las posibilidades de encontrar nuevos y mejores tratamientos y estrategias preventivas.

Fuentes de Infección

La fuente de infección y el modo de transmisión han sido descritos como una interesante paradoja. La madre puede transmitir microorganismos infecciosos al niño mediante el contacto íntimo y también los anticuerpos que lo defienden mediante la leche materna. Se sugiere que la salud bucal de la madre puede ser un factor de riesgo para la salud del recién nacido. La transmisión puede ser:

- Vertical: madres
- Horizontal: otros miembros de la familia, congéneres, niños de la guardería o jardines.

Es prioritario controlar los circuitos de infectividad bucal, especialmente durante la primera infancia, cuando el sistema inmune del niño aún está inmaduro y comienza a tomar contacto con antígenos. La madre por el estrecho vínculo físico con su hijo resulta el principal transmisor de gérmenes, sumado a la fase de reconocimiento bucal del niño de su propio cuerpo y el entorno. Pese a ello el niño cuenta desde el nacimiento con mecanismos de defensa innatos y otros adquiridos pasivamente en la gestación y a través de la lactancia materna, que dificultan el desarrollo de enfermedades infecciosas bucales y sistémicas. ⁽²³⁾

La idea de que las madres son la principal fuente de transmisión de bacterias bucales a sus hijos ha sido sugerida desde la década de los setenta, por primera vez en 1975 por Berkowitz y Jordan.

La mayoría de niños aparentemente adquieren esa bacteria de sus madres por contacto de saliva durante la emergencia de los dientes primarios entre los 6 a los 30 meses y ha sido demostrado que una reducción en los niveles de *Streptococcus mutans* saliva de las madres resulta en el retraso de la adquisición de *Streptococcus mutans* en niños. Aunque la madre

haya sido determinada genotípicamente como la fuente de transmisión de *Streptococcus mutans*, lo mismo no se ha observado con claridad en los padres.

Algunos atributos maternos específicos pueden contribuir en la susceptibilidad del infante en elegir cierta microbiota normal que comienza a colonizar la cavidad bucal. Kohler y Andreen realizaron un programa preventivo reduciendo el número de *Streptococcus mutans* en la cavidad bucal de madres, durante los tres primeros años de vida de sus hijos. Sus resultados demuestran que una reducción de los niveles de *Streptococcus mutans* la madre, durante la erupción de la dentición primaria en los niños, tiene una influencia a largo plazo en la colonización por esa bacteria en los hijos y en la aparición de caries.⁽²⁴⁾

El uso de colutorios con clorhexidina en madres con elevados niveles de *Streptococcus mutans* en saliva, produce reducción en los niveles de *Streptococcus mutans*, con un efecto a largo plazo en la colonización de *Streptococcus mutans* y en la experiencia de caries en los niños.⁽²⁵⁾

Se ha demostrado que el control preventivo dirigido hacia la ventana de infectividad, iniciado en la madre embarazada y continuado con sus hijos hasta los 5 años de edad, resulta ser muy efectivo en reducir la incidencia de caries.⁽²³⁾

El nivel de infección en el infante estará en relación con el grado de infección de la madre. La presencia de 100.000 unidades formadoras de colonias por mililitro de saliva parece ser una cifra nodal, por debajo de esta se estaría en bajo riesgo de inoculación, por encima de ella el riesgo se incrementaría.⁽²⁶⁾

En este sentido se ha reportado que la frecuencia de infección infantil con *Streptococcus mutans* podría ser 9 veces mayor cuando los niveles de maternos en saliva exceden 10⁵ unidades formadoras de colonias (UFC)/ml que cuando reservorios maternos eran menores o iguales a 10⁵ UFC/ml.

La colonización temprana en la boca del niño por el *Streptococcus mutans* determina a futuro una alta experiencia de caries.⁽²⁷⁾

Cuando más tarde el niño es infectado con presenta menos riesgo de tener caries dental. El rango de infección depende de varios factores: del grado de infección de los padres, especialmente de la madre, de la frecuencia del contacto con el niño, de la dieta, y del estado inmunológico del niño. Influye también la saliva del bebé, especialmente la inmunoglobulina A que es muy inferior a la del adulto, su cantidad se reduce durante el sueño y el bebé tiene largos periodos de sueño.

La supresión del reservorio materno de *Streptococcus mutans* previene o retrasa la infección infantil. ⁽²⁸⁾ Madres tratadas con medidas preventivas tienen niños con niveles más bajos de *Streptococcus mutans*, ⁽²⁹⁾ La implantación de los *Streptococcus mutans* puede producirse tras una única inoculación, pero cuantas más inoculaciones se produzcan, mayor será la probabilidad de transmisión.

Existen numerosos estudios que demuestran que la trasmisión vertical no es el único vector de *Streptococcus mutans*. ⁽³⁰⁾ Aislaron *Streptococcus mutans* de niños de una misma aula de la escuela e informaron que muchos niños tenían idénticos genotipos de *Streptococcus mutans*, indicando que la trasmisión horizontal puede ser otro vector para la adquisición de este microorganismo.

La adquisición de microorganismos en el cuerpo humano puede ocurrir por transmisión directa de un hospedador o indirecta por medio de otro organismo vivo, además de objetos inanimados, el agua y la comida pueden transmitir bacterias patógenas.

Ventana de Infectividad

El momento oportuno en el cual ingresan dichos microorganismos para colonizar e infectar, se conoce como “ventana de infectividad”, periodo que comienza en el primer año de vida y se repite con la erupción de cada nueva pieza dentaria. ⁽⁸⁾

Se ha escrito mucho sobre este tema y los resultados de las investigaciones tienden a variar debido principalmente a las diferencias en las poblaciones y a los tipos de cultivos usados para detectar la bacteria en las bocas de los bebés, puede ser debido a diferencias en los

métodos para la toma de muestra. Los estudios que trabajan con muestras de placa en lugar de muestras de saliva pueden encontrar una colonización más temprana. ⁽³¹⁾

Debido a la importancia del *Streptococcus mutans* en el inicio y desarrollo de la caries dental, diversos autores se han dedicado a investigar la adquisición de esta bacteria por los niños y los factores asociados a esta. Así la edad en la que se adquiere y más precisamente los eventos que suceden durante el momento de la adquisición, toman cada vez mayor importancia. La mayoría de investigaciones concuerda en que la primo infección con *Streptococcus mutans* está directamente relacionada a la erupción dental y a los cambios en la alimentación del bebe. ⁽³²⁾ Generalmente, esto sucede durante un período determinado en la vida del niño.

Bonecker ⁽³³⁾ sostiene que corresponde a la erupción de los primeros y segundos molares temporarios (primera ventana) y a la erupción de los primeros molares permanentes (segunda ventana). Cuanto antes se infecta el bebe, mayor es el riesgo de caries en la dentición primaria, cuando se cierra la ventana de infectividad los niños no infectados durante este periodo extienden la oportunidad de permanecer libres de caries.

La colonización inicial por *Streptococcus mutans* en la cavidad bucal de los niños es en general más tardía que la de otros *Streptococcus.*, como el *salivarius* o el *sanguis*, probablemente debido a las diferencias en los lugares donde colonizan. ⁽³¹⁾

Los *Streptococcus mutans* pueden entrar en contacto con los niños de manera muy precoz antes de la erupción dentaria, y de hecho algunos autores detectan estos microorganismos en la boca de niños predentado, ⁽³⁴⁾ aunque en pequeña cantidad, lo que podría corresponder a una contaminación ocasional y no a una colonización.

Tradicionalmente se ha establecido que la primera colonización se situaba alrededor de los dos años de edad, coincidiendo con la erupción de los primeros molares temporales. ⁽³⁵⁾

Algunos autores defienden la existencia de una “ventana de infectividad” para los *Streptococcus mutans* entre los 19 y los 31 meses (media: 26 meses).⁽¹⁸⁾

Otros la toman entre los 6 y 30 meses, otros del nacimiento a los 24 meses 26, después de la cual es mucho más difícil que se produzca la colonización. Pasada esa edad y una vez completada la erupción de piezas temporales, los *Streptococcus mutans* tendrían que competir en esa colonización con otras bacterias ya establecidas en la superficie de los dientes. Sin embargo, han aparecido bastante después de la “ventana de infectividad” cepas de *Streptococcus mutans* no detectadas anteriormente. ⁽³⁶⁾

En cualquier caso, cuando la colonización por *Streptococcus mutans* se produce más adelante, después de los 5 años, parecen ser menores tanto los recuentos de este microorganismo como la cantidad de lesiones de caries a largo plazo en dentición temporal y permanente que en el grupo de niños infectados más precozmente. Son varios los estudios que señalan que en un porcentaje de niños variable la colonización es más precoz que lo referido. ^(34,37,38)

Aquí se evidencia que hay otros factores asociados a la colonización con *Streptococcus mutans* y que no se puede hablar solo de la aparición de las piezas dentales como factor causal.

Si la colonización inicial de *Streptococcus mutans* es dependiente de nichos ecológicos especiales como surcos y fisuras o si la probabilidad de colonización es en función del aumento de la totalidad de las superficies dentarias, durante el periodo entre los 12 a 24 meses, sería el periodo más propicio, no es sabido con certeza aún.

Quizás los dientes recién erupcionados representan un hábitat virgen que permite al *Streptococcus mutans* colonizar la cavidad bucal, evadiendo la competencia con otras bacterias ya establecidas. ⁽³¹⁾ La erupción de los molares primarios podría ser coincidente con otros eventos no conocidos que pueden alterar la susceptibilidad a la colonización por *Streptococcus mutans*. ⁽³⁶⁾

Oros autores en contraste al concepto de discreta ventana de infectividad para la edad de colonización de *Streptococcus mutans* encontramos un constante aumento en el porcentaje de infección en la medida en que la edad y el número de dientes erupcionados aumentan ⁽³⁹⁾, es decir que para estos investigadores no es un tiempo específico en que se inicia y luego

decrece la infección, sino que esta va aumentando progresivamente según va creciendo el niño. Aumentando un poco la edad de los niños, los estudios encuentran colonización por *Streptococcus mutans* en el 83% de un grupo de niños chinos de tres años de edad.⁽⁴⁰⁾

Con todo lo anteriormente expuesto, la llamada “ventana de infectividad” quedaría en entredicho o podría ser más amplia de lo que se consideraba. Sin embargo, la posibilidad de acotar una “ventana de infectividad” durante la edad de mayor riesgo de colonización por *Streptococcus mutans* sería muy útil para la aplicación de medidas preventivas concretas en ese periodo de tiempo.⁽⁴¹⁾

Las estrategias de tratamiento que retrasen la colonización por *Streptococcus mutans* conllevarían así una reducción en la patología de caries.⁽⁴²⁾

Todo pareciera darnos a entender que es imposible no tener algún tipo de contacto con los microorganismos causante de múltiples enfermedades, al mismo tiempo que nos indica el complejo equilibrio con todos los seres vivos a nuestro alrededor. Reconocer los complejos sistemas de coexistencia entre nosotros y los organismo a nuestro alrededor se debe volver fundamental en la mente de cualquier cirujano dentista. Si bien no podemos prevenir el contacto con tales microorganismos, al tener en cuenta lo previo podríamos aminorar los posibles daños a la cavidad oral.⁽⁴³⁾

Microorganismos

Al reconocer a los microorganismos como parte de la cotidianidad de la cavidad bucal, podemos entender que no son los únicos responsables de la aparición de algún tipo de enfermedad como lo menciona en sección anterior, podemos enfocarnos en cuál es el proceso por el cuál los microorganismos causan la enfermedad como caries y determinar su papel en todo este complejo proceso.⁽⁴⁴⁾

Al determinar la presencia de ciertas especies bacterianas en cada etapa de avance de la caries, se ha podido evidenciar que algunas especies bacterianas predominan sólo en las etapas iniciales y otras predominan exclusivamente en las etapas avanzadas de la caries. Este hecho demuestra una sucesión microbiana a lo largo del progreso o avance de la lesión,

que puede estar mediado por la dieta y otros factores. Cada lesión de caries representa un ecosistema único, donde las especies microbianas presentes conforman una biopelícula, y en el que ocurren interrelaciones de sinergismo y antagonismo que determinan la presencia y el crecimiento de microorganismos oportunistas más virulentos y la inhibición de microorganismos residentes poco virulentos. ^(44,45,46)

La enfermedad más estudiada para el cirujano dentista es la caries, para el inicio de esta enfermedad las especies involucradas producen ácido (acidogénicas) y para su progresión se requieren las especies que tienen tolerancia a un medio de pH bajo (acidúricas). Agregando la virulencia particular de especies capaces de producir polímeros de sacarosa, especies capaces de aprovechar esta matriz de polímeros de sacarosa para su adherencia y colonización. El inicio de las lesiones de caries dental es por medio de estos mecanismos de colonización. ^(44,47) dando como resultado, la placa dental asociada a caries dental contiene altas proporciones de bacterias acidogénicas y acidúricas en comparación con la placa dental asociada a sujetos libres de caries dental. ^(44,47,48)

Estudios realizados desde 1890, utilizando métodos de cultivo microbiológicos convencionales, demostraron que *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* estaban asociados a caries dental. ⁽⁴⁹⁾ Cabe destacar que los estudios que soportaron estas evidencias se basaban en el uso exclusivo de medios de cultivo selectivos y no selectivos, originando el crecimiento de un número limitado de especies bacterianas presentes, y no ofrecían la información completa de aquellas especies bacterianas no cultivables presentes, que podían llegar a representar las especies más prevalentes o numerosas. Gracias a los estudios recientes, que han empleado métodos moleculares de identificación bacteriana, entre los que se destacan la Reacción en Cadena de la Polimerasa (RCP), se ha revelado que las especies bacterianas implicadas en el desarrollo de la caries dental son más complejas y variadas que la simple presencia exclusiva de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*. ^(54, 50)

Streptococcus mutans

En esta patología infecciosa, la bacteria *Streptococcus mutans* se le asocia con mayor frecuencia al desarrollo de lesiones cariosas ⁽⁵¹⁾. Estos microorganismos desempeñan un

papel preponderante en la patogenia de la caries, debido a su capacidad para favorecer la desmineralización del diente. Con el objeto de evitar la acción de estas bacterias se han utilizado diferentes estrategias y procedimientos. Es así, como se ha investigado y demostrado la acción antimicrobiana de diversos productos naturales sobre las bacterias productoras de caries ^(52,53), entre ellos, la miel de abejas.

El género *Streptococcus* es un grupo muy heterogéneo, son cocos Gram positivos, dispuestos en cadenas cortas de 4 a 6 cocos o largas, los cuales miden de 0,5 a 0,8 μm de diámetro, anaerobios facultativos, comprenden parte de la microflora microbiana residente de la cavidad bucal y vías respiratorias altas. La mayoría de las especies son comensales, miembros del microbiota normal humana de piel y mucosas, pero también son patógenos oportunistas en enfermedades humanas como la caries dental y la endocarditis infecciosa, entre otras. ^(54,55)

En la cavidad bucal se han aislado *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus sanguinis* (*Streptococcus sanguis*), *Streptococcus cristatus*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus anginosus* y *Streptococcus oligofermentans*. ⁽⁵⁶⁾ De todas estas especies *S Streptococcus mutans* ha sido la más estudiada.

Entre los factores de patogenicidad presentes en *Streptococcus mutans*, se destacan:

- a) Poder acidógeno, acidófilo y acidúrico. ⁽⁵⁷⁾
- b) Síntesis de polisacáridos extracelulares de tipo glucanos insolubles y solubles, y fructanos. ⁽⁵⁸⁾
- c) Síntesis de polisacáridos intracelulares. ⁽⁵⁹⁾
- d) Capacidad adhesiva por las proteínas salivales, que posibilitan su adhesión a superficies duras en ausencia de glucanos, y capacidad agregativa y coagregativa a través de mutanos, glucosiltransferasas y proteínas receptoras de glucanos
- e) Producción de bacteriocinas con actividad sobre otros microorganismos. ⁽⁶⁰⁾

La habilidad de *Streptococcus mutans* de sintetizar glucanos insolubles, a partir de la sacarosa de la dieta, a través de las glucosiltransferasas, facilita la formación de la biopelícula dental.⁽⁵⁵⁾

Se ha demostrado, *Streptococcus mutans* está implicado en el inicio de la lesión de caries, mediante estudios realizados en animales de experimentación, entre los que se destaca el estudio de Fitzgerald y Keyes⁽⁶⁰⁾, en 1960, quienes demostraron el papel de *Streptococcus mutans* como agente microbiano cariogénico en caries experimental en hamsters. También, quedó demostrada la presencia elevada de *Streptococcus mutans* en humanos, en las muestras de placa dental in situ sobre lesiones de caries iniciales de mancha blanca⁽⁶¹⁾. Además, van Houte⁽⁵⁵⁾, en 1994, señaló que *Streptococcus mutans* constituye una alta proporción de la microflora cultivable antes y durante el inicio de la lesión de caries.

Por otra parte, Becker y col.,⁽⁵⁶⁾ en 2002, a través de técnicas moleculares de identificación bacteriana, señalaron la presencia de *Streptococcus mutans* en todas las lesiones de caries profundas examinadas, indicando una fuerte asociación de esta especie con lesiones avanzadas de caries. Este hallazgo, contrasta con estudios anteriores donde se emplearon medios de cultivo, como los realizados por Loesche y Syed⁽⁵⁰⁾, en 1973, y por Hoshino y col.,⁽⁶²⁾ en 1984, quienes reportaron que *Streptococcus mutans* solo constituye una pequeña parte de la microflora cultivable en áreas profundas de dentina cariada. También, se reportaron la presencia, en lesiones de caries profunda, pero en menos cantidades, de *S. salivarius*, *S. parasanguinis* y *S. constellatus*, las cuales se encuentran asociadas con lesiones de caries profunda de caries.⁽⁵⁶⁾

Autores como, Berkowitz⁽⁶³⁾, Kohler y col.,⁽⁶⁴⁾ van Houte y col.,⁽⁶⁵⁾ han sugerido a *Streptococcus mutans* como el mayor agente etiológico microbiano en el desarrollo de caries rampante por biberón. En el caso de lesiones de caries radicular, Schûpbach y col.,⁽⁵⁶⁾ en 1996, encontraron un mayor contagio de *Streptococcus mutans* en lesiones avanzadas que en lesiones iniciales. Mientras que Brailsford y col.,⁽⁶⁶⁾ en 2001, señalaron que *Streptococcus mutans* constituye una pequeña proporción de la microflora presente en la zona radicular, y que no hay evidencia concluyente que indique que *Streptococcus mutans* inicie o esté involucrado en la progresión de lesiones de caries radicular

A pesar de la evidencia que soporta la fuerte asociación de *Streptococcus mutans* con caries inicial y caries avanzada, Loesche y Straffon ⁽⁶⁷⁾, en 1979, señalaron que la caries dental puede ocurrir en ausencia de *Streptococcus mutans*, asimismo, Kleinberg ⁽⁶⁸⁾, en 2002, observó que individuos con altos contagios de *Streptococcus mutans* no necesariamente desarrollan lesiones de caries. Por otra parte, Okada y col., ⁽⁶⁹⁾ y Linqvist y col., ⁽⁷⁰⁾ observaron que *S. sobrinus* es más acidogénico y más acidúrico que *Streptococcus mutans*, y la coexistencia de ambas especies es un factor determinante en el desarrollo de caries.

Braislford y col., ⁽⁷¹⁾ en 2005, notaron asociaciones significativas entre lesiones iniciales de mancha blanca en primeros molares permanentes recién erupcionados y el incremento del número de *S. oralis*, *Streptococcus mutans* y *S. salivarius*, mientras que la presencia de *Actinomyces naeslundii* en estas condiciones se relacionó con molares sanos. También, encontraron diferencias en la microflora, presente entre molares con lesión de mancha blanca parcialmente erupcionados y totalmente erupcionados, destacando la presencia de grandes proporciones de *S. oralis* y *S. salivarius* en los molares recién erupcionados, mientras que *Streptococcus mutans* fue aislado en grandes proporciones en aquellos molares completamente erupcionados. En este estudio quedó en evidencia que otros microorganismos no *Streptococcus mutans* están asociados al desarrollo de lesiones de caries iniciales en molares permanentes en erupción.

Biopelícula microbiana

Como ya hemos leído previamente, los microorganismos causantes de la caries dental trabajan en conjunto. La importancia de algunas especies se puede observar en las primeras etapas de la caries, pero mientras la enfermedad avanza la situación cambia para los tipos de especie.

Las bacterias existen en la naturaleza bajo dos estados: bacterias planctónicas, de libre flotación 1 % y bacterias sésiles, integrantes de colonias de microorganismos llamadas biopelículas 99 %. Las biopelículas se forman cuando las bacterias flotantes encuentran una superficie, se adhieren a ella y, a continuación, elaboran señales químicas para coordinar

diferenciación y formación de estructura, incluido el desarrollo de una cubierta polisacárida protectora.

Las biopelículas son una extraordinaria estrategia de supervivencia que las bacterias y otros microorganismos han aprovechado por millones de años, permitiéndoles habitar bajo condiciones ambientales desfavorables, una incrementada resistencia a agentes antimicrobianos y una elevada transferencia horizontal de genes.

Donlan, la ha definido como «una comunidad microbiana sésil, caracterizada por células que están adheridas irreversible a un sustrato o interfase, o unas con otras, las cuales están encerradas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares que ellas han producido, y exhiben un fenotipo alterado en relación con la tasa de crecimiento y transcripción génica».

La biopelícula se considera, además, un conjunto de biomasa con microcirculación, que permite a las diferentes comunidades bióticas complementarse nutricionalmente. Es una unidad sellada, englobada en polisacáridos extracelulares, que le confiere resistencia ante las defensas del huésped y los antibióticos.

Formación de la biopelícula dental

La formación de la biopelícula se puede dividir en tres fases:

Formación de la película dental (película adquirida):

- f) La formación de la película adquirida es la etapa inicial del desarrollo de la biopelícula. Todas las zonas de la boca, entre ellas las superficies de los tejidos blandos, los dientes y las de restauraciones fijas y removibles, están cubiertas por una película de glucoproteínas. Esta está constituida por componentes salivales y del líquido gingival, así como de desechos, productos bacterianos y de células de los tejidos del huésped. Los mecanismos que intervienen en la formación de la película del esmalte incluyen fuerzas electrostáticas, de Van der Waals e hidrófobas. La superficie de hidroxiapatita tiene un predominio de grupos fosfato con carga

negativa que interactúan directa o indirectamente con elementos de macromoléculas salivales y del líquido crevicular con carga positiva.

Las películas operan como barreras de protección, lubrican las superficies e impiden la desecación del tejido. Sin embargo, también aportan un sustrato al cual se fijan las bacterias.

- Colonización inicial o colonización primaria

Tras unas horas, aparecen las bacterias en la película dental. Los primeros colonizadores de la superficie dentaria cubierta con la película son los microorganismos Gram positivos facultativos, como *Actinomyces viscosus* y *Streptococcus sanguis*. Estos colonizadores iniciales se adhieren a la película mediante moléculas específicas, denominadas adhesinas, presentes en la superficie bacteriana, que interactúan con receptores en la película dental. A continuación, la biomasa madura mediante la proliferación de especies adheridas, y se produce, además la colonización y el crecimiento de otras. En esta sucesión ecológica de la biopelícula, hay transición de un ambiente aerobio inicial, caracterizado por especies grampositivas facultativas, a otro notablemente escaso de oxígeno, debido al consumo de este gas por parte de las bacterias pioneras que favorecen el predominio de gérmenes anaerobios gramnegativos.

- Colonización secundaria y maduración

Los colonizadores secundarios llegan a la placa después de los colonizadores primarios y aprovechan las ventajas de los cambios en el ambiente que el crecimiento y el metabolismo de los colonizadores primarios han producido.

Las bacterias comienzan a aumentar en número y se da inicio un proceso de sucesión ecológica autogénica; los microorganismos residentes modifican el ambiente, de tal forma, que ellos mismos pueden ser sustituidos por otros más adaptados al hábitat modificado.

En primer lugar, en este proceso los espacios intersticiales restantes formados por las interacciones de las bacterias antes descritas se llenan de cocos Gramnegativos como especies de *Neisseria* y *Veillonella*.

Durante este proceso, las condiciones ambientales cambiarán gradualmente provocando más cambios selectivos, que incluyen la abertura del surco gingival como lugar de crecimiento bacteriano y el inicio del flujo de líquido crevicular gingival. A su vez esto aporta más nutrientes provenientes del suero y permite que otras bacterias con diferentes necesidades metabólicas entren en la placa, entre las que se incluyen bacilos Gramnegativos como especies de *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Capnocytophaga*, *Fusobacterium* y *Bacteroides*. A los 7-11 días aumenta la complejidad de la placa por la aparición de bacterias móviles como espiroquetas y *Vibriosis*.

Entre todas las bacterias que forman la biopelícula, existen tres que tienen una relevancia especial en el inicio y la progresión de la enfermedad periodontal: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Tannerella forsythensis*.

La biopelícula supragingival está unida a la superficie dentaria y se encuentra formada predominantemente por *Actinomyces*. Sin embargo, la naturaleza de la biopelícula subgingival es más complicada, ya que existen dos biopelículas diferentes: una asociada a la superficie radicular y otra en íntima relación con la superficie epitelial de la pared blanda de la bolsa. Esta última contiene predominantemente espiroquetas y especies gramnegativas (*P. gingivalis*, *T. denticola*). Entre las dos biopelículas, existe una zona de baja densidad celular compuesta por bacterias débilmente unidas, que parecen estar en estado planctónico.

(40)

Supervivencia microbiana

Entre los mecanismos que permiten la supervivencia microbiana en la cavidad bucal se encuentran la **adhesión**, la **agregación** y la **coagregación**. La adhesión consiste en la unión de los microorganismos a los tejidos del hospedero, la agregación permite la adhesión de los microorganismos a otros de su misma especie, mientras que la coagregación se refiere a la adhesión entre microorganismos de diferente especie.

Todos estos mecanismos permiten la formación de acúmulos microbianos adheridos a la superficie de la cavidad bucal. Estos mecanismos son especialmente importantes en un ambiente sometido a mecanismos de limpieza. Estos procesos de adhesión, agregación y

coagregación contribuyen a la especificidad y diversidad bacteriana en algunos ecosistemas, así como a la formación de la biopelícula y al desarrollo de algunas de las enfermedades de la cavidad bucal como la caries, la gingivitis y la periodontitis.

Adherencia

Los microorganismos se adhieren a las superficies del hospedero por la interacción específica entre dos moléculas, una del microorganismo denominada **adhesina** y otra del hospedero conocida como receptor. Las adhesinas son moléculas superficiales que permiten su fijación a los receptores de las superficies, como tejidos, superficie dental, materiales artificiales u otros microorganismos. ⁽⁴¹⁾

La adhesión bacteriana depende de unos factores inespecíficos de índole físico-químicos, eléctricos, etc. Y otros factores específicos de carácter andesina -receptor, fimbrias, etc. De todas formas, en primer lugar, para que se produzca la adhesión es necesario que la bacteria se acerque a la superficie del material.

El transporte de la bacteria se produce por tres mecanismos: 1) difusión; 2) dinámica del fluido y 3) por actividad propia de la bacteria. No existe ninguna interacción entre la superficie sólida y el microorganismo hasta una distancia de 50 nm. Cuando la bacteria se acerca a esta distancia aparece una atracción debido a las fuerzas de Van der Waals (F_a), que son debidas a un efecto dipolo entre átomos o moléculas. A medida que se va acercando a la superficie y a una distancia más corta que la interacción por las Fuerzas de Van der Waals, aparece una fuerza de repulsión debida a la carga negativa de la bacteria y del material que suelen ser del mismo signo.

A esta fuerza se le denomina “Z potencial” (F_e). De la interacción de estas dos fuerzas es de lo que depende el mayor o menor acercamiento del microorganismo a la superficie del material y es lo que se denomina Energía Gibbs, expresado en la siguiente fórmula:

$$\text{Energía Gibbs} = F_a - F_e$$

El Z potencial depende de la carga iónica de la bacteria y de la superficie del material, pero también tiene una influencia el medio iónico en el que están sumergidas estas superficies.

Normalmente, alrededor de la bacteria y del material, ambos con carga negativa, se forma una concentración de hidrogeniones del medio salivar para neutralizar la carga.

Dependiendo de la ionización del medio se necesitará una capa mayor o menor para neutralizar la carga, obteniendo en las dos superficies una doble capa. Así, en medios iónicos altos la doble capa es muy delgada y permite un mayor acercamiento entre las dos superficies. Sin embargo, en medios iónicos medios o bajos, la doble capa es de mayor grosor y la distancia de la bacteria a la superficie sólida es mayor, ya que la bacteria se detiene cuando las dobles capas entran en contacto.

El resultado de estas interacciones es el mayor o menor acercamiento de la bacteria a la superficie del material. Cuando la bacteria llega a una distancia de 2nm podemos predecir que la adhesión será irreversible, sin embargo, a una distancia de 10 nm la situación es crítica ya que la bacteria dependiendo de su tamaño y otros factores puede adherirse reversible o irreversible. A distancias mayores, la adhesión puede considerarse reversible.

Estas fuerzas que hemos descrito son un modelo de cómo puede ocurrir la adhesión de las bacterias a la superficie dental o a los biomateriales. Se llaman fuerzas de gran alcance y están sometidas a las leyes físico - químicas. Realmente no sabemos si todo ocurre de esta forma, porque no están totalmente demostrados los mecanismos de la adhesión, pero este modelo según diferentes autores es el que se puede acercar más a la realidad. Esta teoría denominada DLVO debido a las iniciales de los autores que la describieron: Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek, es una hipótesis cualitativa, que describe la posibilidad o no de que la adhesión sea reversible o irreversible, pero en ningún modo nos cuantifica la adhesión.

Una vez que la bacteria está cerca de la superficie sólida, entran en juego las fuerzas de corto alcance, donde la interacción de fuerzas es sustituida por una serie de fuerzas adhesivas, que tienen un carácter de enlace primario, bien iónico o covalente. Posteriormente, se produce la fijación a la superficie del biomaterial o la superficie dura del diente. Cuando se fijan los microorganismos entran en íntimo contacto con la superficie sólida, ya que la bacteria tiene la capacidad de absorber el medio hídrico que le rodea, debido a grupos hidrofóbicos que ella posee o sus apéndices. A veces existe una separación

entre las dos superficies, pero es debido a los polisacáridos extracelulares fabricados por estos microorganismos.

En la fijación están presentes una serie de mecanismos específicos. La superficie del diente se reviste por una película con componentes salivares que actúan como receptores específicos. Estos receptores pueden ser sacáridos para las adhesinas bacterianas, pero también pueden ser receptores proteínicos para algunas adhesinas como las PRP s (proteínas salivales ricas en prolina). Los polisacáridos extracelulares son fabricados por las bacterias debido a la enzima glucosiltransferasa libre o en el interior de la bacteria. Esta enzima tiene la capacidad de metabolizar la sacarosa de la dieta y descomponerla en glucosa y fructosa. A partir de la glucosa pueden establecerse uniones alfa 1-6 ó alfa 1-3, a estos últimos se le denominan mutanos y debido a su carácter insoluble, son fundamentales en los mecanismos de adhesión bacteriana.

En algunas ocasiones, cuando la bacteria está a una distancia aproximadamente de 10 nm, la bacteria puede unirse íntimamente a la superficie del material debido a sus prolongaciones, fimbrias o pilis, que pueden alcanzar al material o la superficie dentaria. Esto es debido a que las fuerzas de Van der Waals no son influenciadas por el radio del microorganismo, pero las fuerzas electrostáticas sí. Como la fimbria es de un radio muy pequeño las fuerzas de atracción siguen existiendo, pero las electrostáticas de repulsión se minimizan, por lo que la prolongación bacteriana es capaz de alcanzar la superficie sólida, aunque la bacteria no. Por tanto, estas prolongaciones juegan un importante papel en la adhesión bacteriana a distancias mayores de 2 nm.

Una vez formada la película adquirida salival sobre la superficie del diente o del biomaterial y la fijación de la primera capa bacteriana, la posterior colonización y maduración de la placa es un proceso común que en nada se diferencia de la superficie colonizada. Es decir, la maduración de la placa está condicionada más por factores de localización de la placa (p.e. supragingival o infragingival), que por las características de superficie. En otras palabras, si es que existe una influencia del material en la adhesión bacteriana, esta reside en las características de la película adquirida y en la especificidad de

las proteínas adsorbidas salivares (receptores), que puedan ser condicionadas por la composición del material o por las características de superficie de este. ⁽⁴²⁾

Dichas adhesinas, pueden ser residuos de hidratos de carbono, proteínas superficiales, glucanos solubles e insolubles del glicocálix, glucosiltransferasas, proteínas que unen o fijan glucanos, proteínas que se fijan a la película adquirida, moléculas proteicas contenidas en las fimbrias y/o ácidos lipoteicoicos.

Con estas adhesinas interactúan algunos compuestos que actúan como receptores, estos pueden ser carbohidratos del glicocálix, glucoproteínas como la fibronectina de células epiteliales o de proteínas y glucoproteínas salivales absorbidas al esmalte o materiales artificiales formando la película adquirida. ⁽⁴¹⁾

Entre los principales mecanismos de adhesión, agregación y coagregación destacan los siguientes:

Uniones mediadas por glucanos: En estas uniones intervienen glucanos, principalmente insolubles ya que los solubles son fácilmente degradables, proteínas superficiales que fijan glucanos y las enzimas glucosiltransferasas. Las enzimas glucosiltransferasas sintetizan los glucanos, pudiendo quedar unidas a las superficies bacterianas o ser excretadas al medio circundante. Los glucanos liberados al medio pueden fijarse a proteínas superficiales y actuar de punto de unión. Un ejemplo de este tipo de unión es la que lleva a cabo *Streptococcus mutans*. ⁽⁴³⁾

Uniones tipo lectina carbohidratos: Las lectinas constituyen un grupo de proteínas de origen no inmune que comparten en común la propiedad de enlazarse de forma específica y reversible a carbohidratos, ya sean libres o que formen parte de estructuras más complejas. Tienen la propiedad de combinarse con varios tipos de glicoconjugados presentes en las superficies y es necesaria una complementariedad entre las superficies con las que interactúan. En la película adquirida se forman estas uniones entre las fimbrias y proteínas superficiales de algunas bacterias y residuos de galactosa. Por ejemplo, en el caso de unión a proteínas de *Streptococcus mutans* Este tipo de uniones se pueden dar en los fenómenos de coagregación bacteriana.

Uniones tipo proteína-proteína: Intervienen principalmente proteínas de la película adquirida ricas en prolina que se unen a proteínas microbianas como las que forman parte de las fimbrias. Además de participar en la adhesión estas uniones son importantes en los fenómenos de coagregación. En los coagregados participan especies distintas dando lugar a masas microbianas heterogéneas. Uniones por ácidos lipoteicoicos (ALT). Estos ácidos son polímeros aniónicos de la pared celular de bacterias Grampositivas. La carga negativa de los extremos hidrófilos de estos compuestos permite al microorganismo adherirse a los iones calcio y fosfato o a los grupos sulfato de las glucoproteínas de la película adquirida.

Adhesión a superficies epiteliales: La fibronectina es una glucoproteína de la saliva que recubre las células epiteliales y que actúa como receptor de adhesinas bacterianas. Las bacterias habituales de la cavidad bucal se adhieren a esta glucoproteína que bloquea receptores de adhesinas de otro tipo de microorganismos que no se localizan habitualmente en la boca, con lo que tiene un papel protector frente a microorganismos más patógenos que los comunes.

Unión física por retención: Muchos microorganismos quedan retenidos en la cavidad bucal en fosas, en fisuras, en áreas interproximales de los dientes, alrededor de prótesis, en el surco gingival, en bolsas periodontales o en lesiones producidas por la caries. Otros pueden quedar retenidos entre otros microorganismos que forman parte de biopelículas sin poseer mecanismos de adhesión o coagregación.

Los complejos sistemas con los que cuentan los microorganismos parecieran perjudicar completamente a su huésped. Es importante conocer los procesos químicos y físicos de organismos biológicos que trabajan en una colaboración constante para saber los momentos propicios en los cuales debemos interdecir, como cirujanos dentistas debemos tomar conciencia de cada uno. Siendo la adherencia uno de los más importantes, ya que da comienzo a una sucesión de eventos importantes para la salud dental. ⁽⁴³⁾

La dieta

La dieta desempeña un papel fundamental en el desarrollo de la caries dental, especialmente, en personas de riesgo. Lo normal es que la asociación de un elevado

consumo de hidratos de carbono fermentables y la no incorporación de flúor se asocia a una mayor aparición de caries, sin embargo, ello no tiene razón de ser en aquellas sociedades desarrolladas con exposición adecuada al flúor e historia de caries baja. Aunque no existe una relación directa entre malnutrición proteico - calórica y la caries, el déficit de vitaminas (A, D), calcio y fósforo puede ocasionar alteraciones en el desarrollo dentario y retraso en la erupción. En la malnutrición proteico-calórica tan frecuente en los países en vías de desarrollo, se ha detectado una disminución de Inmunoglobulina A en la saliva, lo que podría aumentar la susceptibilidad a la caries (la inmunidad de mucosas muestra afectaciones mediante la disminución de Ig A secretora).^(72,73)

La interacción entre la dieta y la caries dental constituye un aspecto de importancia trascendental, ya que los alimentos son la fuente de los nutrientes necesarios para el metabolismo de los microorganismos.

No hay ninguna evidencia de producción natural de caries sin la presencia de carbohidratos en la dieta. A esto debe agregarse que la placa o biopelícula expuesta a azúcares produce un descenso del pH que es necesario para la descalcificación del esmalte.⁽⁷⁴⁾

Metabolismo de la sacarosa

La sacarosa es el sustrato para el metabolismo bacteriano. El metabolismo de la sacarosa incluye tres etapas fundamentales:

1. Producción de ácidos.
2. Síntesis de polisacáridos extracelulares.
3. Síntesis de polisacáridos intracelulares.

Producción de ácidos

La mayor cantidad de la sacarosa que ingresa en la cavidad bucal es utilizada como fuente energética por los microorganismos.

Dentro de las células la sacarosa es desdoblada por la acción de la enzima invertasa en glucosa y fructosa y debido a su fosforilación se convierte en glucosa 6 fosfatos (G6P).

A partir de la glucosa 6 fosfato hidrolasa se originan glucosa 6 fosfato y fructosa a las que por la vía del ciclo Embden-Meyerhof-Parnas (o vía glucolítica) van a dar lactato y pequeñas cantidades de formato, acetato y etanol.

La célula bacteriana cuenta con dos mecanismos de transporte:

- a) El sistema fosfoenolpiruvato fosfotransferasa.
- b) El sistema asociado con permeasas y translocación de protones.

Polisacáridos extracelulares

Antes de que la sacarosa penetre en la célula un porcentaje de ella es transformado por exoenzimas de *Streptococcus mutans* que la rompen y transfieren cada fracción hexosa a una molécula receptora y forman polímeros que se difunden en el medio vecino o permanecen asociados con la célula.

Estos polímeros son:

Glucanos solubles: dextranos. Enlaces glucosídicos alfa 1-6.

Glucanos insolubles: mutanos. Enlaces glucosídicos alfa 1-3.

Fructanos solubles: levanos.

En los glucanos solubles predominan los enlaces glucosídicos alfa 1-6 y en los Insolubles los enlaces glucosídicos alfa 1-3; en los fructanos hay uniones beta (2·6) o beta (1-2). La formación de estos polímeros se debe a enzimas extracelulares (glucosiltransferasas-[Gtl] y fructosiltransferasas-[Ftf]) que parten de las moléculas de sacarosa, en monosacáridos: los grupos glucosídicos y fructosídicos son transferidos a receptores de glucanos y fructanos, respectivamente.

Los **mutanos** son difíciles de degradar y son más adhesivos, favorecen la unión a las proteínas fijadoras de las células, y estimulan los fenómenos de agregación y adhesión bacteriana.

Streptococcus mutans, *Streptococcus salivarius* y *Actinomyces viscosus* producen un polímero homofruktosa o fructano a partir de la sacarosa que se denomina levano. Los levanos son fácilmente degradados por enzimas (levanasas), actúan como fuentes de reserva de energía, puesto que son sintetizados en períodos con excesos de nutrientes y catabolizados en períodos de escases.

Streptococcus mutans posee una fructosiltransferasa extracelular que cataliza la reacción: queda glucosa libre como residuo. No hay correlaciones entre el **fructano y la cariogenicidad**.

La enzima invertasa libera glucosa y fructosa en el medio externo a partir de sacarosa, y así estas hexosas se difunden al medio interno celular. También existe una invertasa intracelular.

Polisacáridos intracelulares

Una vez que la glucosa o la fructosa penetran en la célula, su destino es ser catabolizadas por la vía glucolítica.

Los excesos de azúcares derivan en un compuesto que almacena reservas de energía para ser utilizada en los momentos donde disminuye el aporte de nutrientes.

La formación de este polisacárido intracelular (PI) está encadenada con la vía glucolítica y los niveles celulares de ATP. ⁽²⁾

La producción de ácido y el aprovechamiento de sus derivados es un proceso complejo y llevaba acabo por diversos microorganismos que más adelante a la posible producción de la caries. Veremos algunas de sus características más adelante y trataremos de separarnos de la idea de los microorganismo como único factor para esta investigación.

Caries

Al conocer todos los factores previos a la enfermedad podría aparentar una sucesión de eventos inevitables capaces de condenar a un individuo a padecer la enfermedad.

Pero, la caries dental es una enfermedad infecciosa bacteriana **modificada con dieta**, iniciada a partir de placa dental cariogénica / biopelícula formadas en las superficies dentales. Es una de las enfermedades crónicas más prevalentes a nivel mundial. ^(75,76,77)

Es una enfermedad con una etiología multifactorial, ya que se debe a la interacción de varios factores: la dieta, la susceptibilidad del huésped y la presencia de microorganismos durante un cierto período de tiempo. ⁽⁷⁸⁾

Es causado por el proceso de desmineralización de la superficie dental por ácidos orgánicos de la fermentación de carbohidratos en dieta, por las bacterias. NEWBRUM (1988), agregó un factor adicional “el tiempo” que debe considerarse en cualquier discusión sobre la etiología de la caries. ⁽⁷⁹⁾

Sigue siendo un importante problema de salud bucal en la mayoría de los países industrializados, que afecta al 60-90% de los escolares y a la gran mayoría de los adultos. ⁽⁸⁰⁾

Las periodontopatías y la caries dental son las principales causas de la pérdida de dientes. La pérdida grave de dientes y el edentulismo total son trastornos muy extendidos y afectan especialmente a las personas mayores. La pérdida grave de dientes y el edentulismo total fueron dos de las diez principales causas de años perdidos por discapacidad (APD) en algunos países de altos ingresos, debido al envejecimiento de sus poblaciones. ⁽⁸¹⁾

La información en países desarrollados en 1960 y 1970 reportó una alta prevalencia y severidad de caries dental en la población escolar. Sin embargo, a partir de 1980 se ha reportado una disminución caracterizada por un menor número de dientes afectados y una mayor proporción de niños libres de caries. ^(82,83) En México, la caries dental continúa siendo un problema importante en la población escolar tanto en la zona industrializada

como en la rural. ^(83,84,85) Existen reportes de que el patrón de caries se caracteriza por una distribución no homogénea, donde una proporción de la población se encuentra severamente afectada por la enfermedad, denominada población de alto riesgo, la cual ha sido objetivo para identificar la predicción de riesgo de caries. ^(86,87)

Otros factores

La falta de higiene bucal adecuada (no cepillado después de lactar), hábitos dietéticos inadecuados (uso de biberón con sustancias azucaradas) y hábitos socio-culturales (dejar dormir al niño con el tetero en la boca) fueron los principales factores etiológicos de riesgo para caries rampante entre poblaciones evaluadas. Todos estos factores son prevenibles, sin embargo, se nota una falta de instrucción de los padres acerca del problema. Debido a ello las campañas de educación en salud bucal deben ser una de las medidas más importantes a ser implementadas. ⁽⁸⁸⁾

Tratamiento de caries en México

Se han establecido tratamientos y nuevas alternativas para combatirla, es sin duda la enfermedad con mayor prevalencia y más costosa por los tratamientos y las horas de trabajo perdidas en los países en desarrollo e industrializados. En México, considerando que existe una población de aproximadamente 100 millones de personas, solamente existe un número limitado de estudios enfocados a la comprensión de los factores involucrados en el desarrollo de caries dental.

Algunos estudios epidemiológicos estiman que alrededor del 95% de la población mundial se encuentra afectada. En México se ha determinado que el índice CPOD (Dientes cariados, perdidos u obturados) para 1991-1992 de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud se estimó en 2.5 a 5.1 para niños de 12 años lo cual está considerado como un grado de afección de moderado a alto, ya que lo ideal en este tipo de padecimientos, por involucrar la pérdida de dientes y que en su control un factor importante es la higiene mediante el cepillado, debería de ser de cero. Sin embargo, los resultados de estudios epidemiológicos a

nivel mundial y lo detectado en México, resulta preocupante por el progreso de esta enfermedad.^(89,90)

El contacto con los microorganismos causantes de la caries es inminente a lo largo de la vida como ya lo hemos visto, rápidamente si no se atienden los microorganismos proliferan en complejas estructuras capaces de degradar, sintetizar y crecer a partir de la estructura humana más duro del cuerpo humano. Siendo prioridad su tratamiento en la mayoría de países industrializado, aun no se ha podido encontrar la cura. Los métodos tradicionales consiste en quitar el tejido afectado en el diente y colocar un material de restauración lo más similar al tejido perdido.

Pareciera imposibilitarnos algún otro medio, siendo el segundo más utilizado la prevención y en ese sentido, pareciera haber una posibilidad de buscar una solución, La aparición de endulzantes, como ya leímos previamente el alto consumo en sacarosa provenientes de azúcar convencional, ingrediente fundamental en muchos alimentos procesados como dulces, bebidas azucaradas, pasteles e incluso condimentos. Para este estudio revisaremos las características de la Stevia, el Xilitol y la sacarosa, así como su uso en la industria y posibles aplicaciones en un futuro.

Las medidas de prevención a pesar de su sencillez parecieran no ser significativas para detener la expansión de números de casos con esta enfermedad.

Stevia

La Stevia (*Stevia rebaudiana* [Bert.] Bertoni) es una especie del género *Stevia* de la familia de las Asteráceas nativa de la región tropical de Sudamérica; se encuentra aún en estado silvestre en el Paraguay, especialmente en el Departamento de Amambay y en la provincia argentina de Misiones, pero desde hace varias décadas se cultiva por sus propiedades edulcorantes y su ínfimo contenido calórico.^(91,92,93)

Ha sido introducida como un cultivo en un número de países como Brasil, Corea, México, Estados Unidos, Indonesia, Tanzania y Canadá desde 1990. ^(94,95) En la actualidad su producción está centrada en China y el principal mercado está en Japón. ⁽⁹⁶⁾

Es una planta considerada medicinal, pues varios estudios demuestran que puede tener efectos beneficiosos sobre la diabetes tipo II ⁽⁹⁷⁾, ya que posee glucósidos con propiedades edulcorantes sin calorías. Su poder de edulcoración es 30 veces mayor que el azúcar y el extracto alcanza de 200 a 300 veces más. Las hojas tienen el mayor contenido de esteviosido y rebaudiosido A, que son sus principales principios activos ⁽⁹⁸⁾. Los extractos de *S. rebaudiana* contienen un alto contenido de glucósidos esteviól diterpenos. El esteviósido y el rebaudiosido A, son los principales compuestos responsables de la edulcoración y normalmente están acompañados por pequeñas cantidades de otros esteviól glicósidos. ⁽⁹⁹⁾

En la actualidad, en Japón el 41 % de los endulzantes consumidos provienen de *S. rebaudiana*. El edulcorante obtenido de esta planta, presenta efectos beneficiosos en la absorción de la grasa y regulación de la presión arterial ^(100,101) y es utilizado como remplazo del azúcar para personas que sufren de diabetes, ya que no incrementa los niveles de azúcar en la sangre; por el contrario, estudios han demostrado su propiedad hipo glucémica, mejorando la tolerancia a la glucosa.

Adicionalmente, a esta planta se le atribuyen propiedades antimicrobianas y antifúngicas, especialmente contra bacterias tales como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Corynebacterium difteriae*, y contra el hongo *Candida albicans* productor frecuente de vaginitis en la mujer. Se utiliza también en preparaciones cosméticas para el tratamiento de manchas y granos en la piel. ⁽¹⁰⁰⁾

La Stevia principalmente es usada en el tratamiento de alteraciones de la piel, sustituto del azúcar y en prevención de caries. Se ha informado que tiene efectos bactericidas sobre *Streptococcus mutans*, al poseer propiedades antibacterianas y antivirales. Los esteviósidos regulan el nivel de glucosa en la sangre debido al aumento en la producción de insulina y una mejor utilización de la glucosa por los tejidos periféricos y los músculos en ratas diabéticas; a su vez se postula que los esteviósidos neutralizan la glucotoxicidad en la célula beta o también suprime la excreción de glucagón por parte de las células alfa del páncreas. La Stevia no contiene calorías y las hojas de la planta pueden utilizarse en su estado natural en pequeñas cantidades, a causa de su gran poder edulcorante. ⁽¹⁰²⁾

La Stevia aún no se populariza para creación de algún producto como dulces, repostería o simplemente como endulzantes de mesa. Sería bastante interesante investigar las características de los derivados o el uso de la Stevia en alimentos para investigaciones posteriores. A la fecha de investigación de este estudio no se encontró información relevante.

Xilitol

El Xilitol está presente en diversas frutas y vegetales e incluso es producido en el organismo humano durante el metabolismo, estableciendo un ciclo estéril de consumo de energía intracelular que rompe la cadena energética del fosfato e inhibe, in vitro, la producción de polisacáridos de los microorganismos de la cavidad bucal. Controlando la acumulación de la biopelícula en las superficies dentales, evitando la inflamación gingival y lesiones por caries dental. Análisis químicos han demostrado que la biopelícula que se forma en presencia de Xilitol contiene más calcio que en presencia de sacarosa, ya que este calcio está parcialmente presente en forma soluble y puede estar disponible para la remineralización de sitios deficientes de calcio. ^(103,104,105)

El descubrimiento del Xilitol se le atribuye al químico alemán, premio nobel de química, Emil Fisher y a su alumno Rudolf Stahel en 1891 ⁽¹⁰⁶⁾ y ha sido utilizado en la industria alimentaria como sustituto del azúcar desde finales de 1960 ^(107,108), durante la Segunda Guerra Mundial en Finlandia que al estar en guerra con Rusia y Alemania no dispone de azúcar y finalmente recurre al descubrimiento de Fischer ⁽¹⁰⁶⁾, para ello extrajeron el azúcar de madera o azúcar de abedul, que a través del uso de la hidracina, aislaban un compuesto al que llamaron Xilitol, como resultado de la investigación de los derivados de la xilosa. ⁽¹⁰⁸⁾

Propiedades físico-químicas:

El Xilitol es un polialcohol natural de cinco átomos de carbono, que se encuentra en algunas plantas como levaduras, hongos, líquenes, frutas (fresas, frambuesas, arándanos) y vegetales (coliflor, maíz y abedul), pero en cantidades muy pequeñas (menores a los 900 mg/100 gr). ^(109,110)

Se trata de un polvo blanco, cristalino, de sabor dulce, sin olor, altamente soluble en agua (64,2 g/ 100 ml) y en metanol ^(111,112) Su poder edulcorante es de 0,8 a 1,1 veces superior al de la sacarosa con un valor calórico de 2,4 Kcal/g; 2,4 veces más dulce que el manitol y 2 veces más que el sorbitol. ⁽¹¹⁾

Presenta una agradable sensación refrescante debido al valor negativo del calor específico de disolución (- 34,8 cal/g), con un punto de ebullición de 216 °C y un punto de fusión de 94 °C. ^(111,112)

Producción:

El Xilitol se encuentra naturalmente en pequeñas cantidades en frutas, verduras y bayas pero también es producida naturalmente por el cuerpo humano como parte del metabolismo normal e industrialmente es producido por hidrogenación química de la xilosa a partir de materiales vegetales ricos en xilano, como el abedul y la madera de haya. ^(103,104,113)

Se obtiene convencionalmente en la industria por hidrogenación catalítica de la xilosa a alta presión, usando catalizadores de níquel o níquel Raney. Es necesario tener en cuenta que se requieren de operaciones previas de purificación (intercambio iónico, decoloración y fraccionamiento cromatográfico) ya que el rendimiento y localización del proceso dependen de la pureza de la solución inicial de xilosa. Estos procesos aumentan el tiempo de proceso y encarecen el producto. ⁽¹¹⁴⁾

La producción biotecnológica de xilitol a partir de la xilosa presente en bagazo de caña de azúcar, eucalipto, paja de arroz y paja de trigo utilizando levaduras (*Candida guilliermondii*, *tropicalis*, *boidinni*, *parapsilosis* y *lasPichias*) y/o enzimas, busca disminuir los precios puesto que, los hidrolizados hemicelulósicos obtenidos de residuos agroindustriales, pueden competir con los procesos químicos tradicionales representando así una alternativa más económica. ^(114,115)

La producción anual de Xilitol es de 20,000 a 40,000 toneladas por año aproximadamente, con un valor económico que ya no es tan elevado como en años posteriores gracias a nuevos métodos que permiten su obtención de manera más eficaz. ^(105,113)

Los factores que afectan la producción de Xilitol son: la concentración inicial de inóculo, tipo de sustrato, composición del medio de cultivo, temperatura, pH y transferencia de oxígeno.⁽¹¹⁶⁾

Usos:

El uso del Xilitol ha sido aprobado por la Federal Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos y The American Academy of Pediatric Dentistry como un agente edulcorante para uso humano desde la década de 1960, pues provee la misma cantidad de dulzor y consistencia que la sacarosa, pero con menor cantidad de calorías (2.4 Kcal/g comparado con 4 Kcal/g de la sacarosa), ideal para personas con sobrepeso o diabetes.^(103,113)

Es usado en el área clínica en los pacientes con dificultad de metabolizar la sacarosa que se encuentren en la fase posquirúrgica por ser bien asimilado en infusiones, además mejora las propiedades bioquímicas de los huesos en caso de osteoporosis y previene la otitis aguda.⁽¹¹⁷⁾

Por sus múltiples beneficios, el Xilitol es industrialmente usado para endulzar gomas de mascar, pastillas, dulces, pastas dentales y jarabes para la tos ⁽¹¹³⁾, y es por ello que los estudios proponen al Xilitol como alternativa de prevención para poblaciones vulnerables identificadas como especiales para el periodonto “PEPE” (niños discapacitados, mujeres en gestación, soldados en campaña, nativos americanos, pacientes con xerostomía, etc.) ⁽¹²³⁾. Se usa como edulcorante y agente de retención de humedad en cosméticos. ⁽¹¹⁸⁾

También se consideró que la administración de Xilitol a través del conducto auditivo, reduce los problemas crónicos del oído en niños hasta en el 92% de los casos. Además de unirse en el intestino al calcio con el objetivo de facilitar su absorción y aumentar de esta manera la densidad ósea, por lo que en Estados Unidos ya es utilizado como terapia para combatir la osteoporosis. ⁽¹¹⁹⁾

Aplicación en odontología:

En la cavidad bucal, diversos estudios evalúan el potencial cariogénico de distintos edulcorantes que han arrojado evidencia sustancial de que el Xilitol es el edulcorante artificial más prometedor, puesto que tiene efecto sobre la formación de la biopelícula y sobre otros factores que causan la enfermedad como la interrupción de los procesos de producción de energía que reduce la adhesión y causa muerte celular. La evidencia hasta la fecha indica que los mecanismos de acción del Xilitol incluyen: Ausencia de degradación de productos finales por ácidos, la estimulación del flujo salival y el aumento de la capacidad buffer de la misma, así como la disminución de la acumulación de placa y bacterias cariogénicas ⁽¹²⁰⁾; también tiene un papel fundamental en la remineralización de sitios con descalcificación y la inhibición de la desmineralización del esmalte dental. ⁽¹²¹⁾

Estudios demuestran que el Xilitol produce ambientes desfavorables para el desarrollo *Streptococcus mutans* ⁽⁹⁴⁾ puesto que, reduce la adherencia a tejidos bucales al afectar la capacidad de formar biopelículas. Se concluye que la acción del Xilitol es ingresar al citoplasma bacteriano, interferir en la glucólisis e inhibir el crecimiento celular.

La evidencia acumulada sugiere que el *Streptococcus mutans* es el organismo objetivo del Xilitol in vivo, puesto que, se reducen y se mantienen en niveles más bajos durante el consumo de Xilitol a largo plazo y, por consiguiente, al ser consumido por madres reduce la transmisión madre a hijo de estos microorganismos reduciendo el riesgo de caries en los niños. ⁽¹²²⁾

El ciclo metabólico del Xilitol contra *Streptococcus mutans* empieza cuando este transporta el azúcar a la célula para la elaboración de energía, convirtiendo así al Xilitol en Xilitol-5-fosfato a través del sistema fosfoenolpiruvato fosfotransferasa que al defosforilar a la molécula está es expulsada de la célula a un costo de energía que no proviene del metabolismo del Xilitol, lo que resulta en el desarrollo de vacuolas intracelulares y la degradación de la membrana celular con la posterior muerte celular de la bacteria^(123,124). Sin embargo la rápida eliminación del Xilitol de la cavidad bucal es explicada por el aumento a corto plazo de las concentraciones de la misma en la saliva, por lo que en la actualidad se ha tratado de incluir al Xilitol dentro de productos de uso odontológico como barnices ⁽¹²³⁾ ya que se observó que al adicionarlo al flúor ⁽¹²⁵⁾ la desmineralización se

previene, unido al cloruro de cetilpiridino ⁽¹²⁶⁾ actúa como antibacteriano en la formación de la biopelícula en la superficie de dientes, y dentro de enjuagues a base de fluoruro de sodio con el objetivo de obtener efecto remineralizador en dientes temporales ⁽¹²⁷⁾, acompañando a la leche ⁽¹²⁸⁾ en el desayuno de niños disminuye la prevalencia de caries dental, en endodoncia como potencial irrigante junto al farnesol ⁽¹²⁹⁾ por tener propiedades antibacterianas y evitar la formación de la biopelícula.

El efecto antiinflamatorio del Xilitol se da al inhibirla producción de citocina IL-6 inducida por el liposacárido de *P. gingivalis* (LPS). Causa periodontitis junto a otros periodontopatógenos como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Treponema denticola*.⁽¹³⁵⁾

Se ha estudiado también el papel del Xilitol como inhibidor efectivo de *Candida albicans* que depende de una relación dosis-dependiente. Se ha reportado que concentraciones al 5%, 18% y 10% de Xilitol son efectivos en la inhibición del crecimiento de *C. albicans*, in vitro.⁽¹³⁰⁾

También se ha reportado en estudios la reducción del número de bacterias acidúricas y acidógenas (como lactobacilos) y levaduras.⁽¹³¹⁾

Seguridad:

La frecuencia y duración de la exposición al Xilitol varía desde los 8 a 200 gramos por día, pero la Asociación Dental de California considera óptima para consumo total de 5-7 gramos por día, misma que se puede lograr por ejemplo al consumir goma de mascar o mentas con Xilitol de 3 a 5 veces al día por 5 minutos.^(132,133)

La dosis recomendada para la prevención de la caries dental es de 6-10 gramos por día y para aquellos con disfunción temporomandibular o con dificultad para masticar, se deben usar caramelos con Xilitol.⁽¹⁰³⁾

El Xilitol se metaboliza en el intestino grueso y actúa de forma similar a la fibra pudiendo causar en grandes cantidades evacuación blanda o tener efecto laxante. Sin embargo, las

cantidades sugeridas para la reducción de la caries dental son mucho menores que las cantidades necesarias para causar resultados indeseados. ⁽¹³⁴⁾

Se han realizado estudios donde se prueba el uso diario de dosis altas de Xilitol (11,6g) por 6 meses usando como vehículos a gomas de mascar y pastas dentales, estos demuestran que durante este tiempo el tratamiento demostró ser efectivo como estrategia preventiva en niños con alto riesgo de caries, siendo seguro su uso. ⁽¹³⁴⁾

A diferencia de la Stevia el Xilitol tiene un amplio contenido en cuanto a investigación en el área odontológica. Su aparición en el mercado es mucho antes de la Stevia. A pesar de esos factores, tiene el mismo destino que la Stevia al no ser popular en el consumo diario en la mesa. Posiblemente se deba a una inaccesibilidad económica de la población o a su viabilidad en cuanto a la recolección y extracción de ambos endulzantes

Sacarosa

Los disacáridos son carbohidratos que están formados por dos unidades de monosacáridos que se liberan al ser sometidos a hidrólisis. La unión de los dos monosacáridos se produce por la reacción del hidroxilo acetálico de uno de ellos con un hidroxilo de la otra molécula con eliminación de una molécula de agua. Algunos de estos disacáridos no contienen grupos hidroxilo acetálicos libres, por lo que no ejercen acción reductora y no reaccionan con el líquido de Fehling. A este grupo pertenecen la trealosa, asotrealosa y sacarosa. Los disacáridos por ebullición con ácidos diluidos o mediante enzimas sufren hidrólisis. Para los disacáridos existentes en la naturaleza se encuentran siempre enzimas que los descomponen, específicas del azúcar que hidrolizan. Algunos de los disacáridos de este grupo se encuentran libres en los vegetales. El más importante es la sacarosa.

Obtención

Sacarosa es nuestro azúcar de mesa que se obtiene de la remolacha. Es el compuesto orgánico de mayor producción en forma pura. Se encuentra en el reino vegetal en numerosas plantas, aunque en cantidades pequeñas. En una cuantía suficiente para permitir

su extracción industrial la contienen la caña de azúcar y la remolacha azucarera, la caña de sorgo y menos abundante el árbol de maple y algunas palmas.

Propiedades químicas y físicas

Sacarosa tiene la fórmula molecular $C_{12}H_{22}O_{11}$. No reduce el reactivo de Tollens, ni el de Fehling; es un azúcar no reductor. Además, no forma oxazona; no presenta anómeros ni mutarotación en solución. Todos estos hechos indican que la sacarosa no contiene grupos aldehído o cetónico “libre”.

La sacarosa es muy soluble en agua. A temperaturas crecientes aumenta su solubilidad. Se disuelve algo más en el alcohol metílico que en el etílico, en el que es casi insoluble. Es insoluble en alcohol absoluto, en éter y en cloroformo. Las soluciones acuosas concentradas de varios azúcares y especialmente las de sacarosa se consideran sistemas semicoloidales, cuyo grado de dispersión se encuentra entre la dispersión coloidal y la molecular. Así lo demuestra la existencia en las soluciones concentradas de sacarosa del efecto Tyndall, prueba suficiente de la heterogeneidad del medio, a diferencia de las soluciones moleculares ópticamente inactivas. ⁽¹³⁷⁾

Sacarosa como factor cariogénico

Dentro de los factores favorables del desarrollo de la caries dental, uno de los más estudiados es el consumo excesivo de azúcares simples. Numerosos estudios han demostrado la asociación entre caries y carbohidratos refinados o azúcares, especialmente, la sacarosa o azúcar común. Los azúcares consumidos con la dieta constituyen el sustrato de la microflora bucal y dan inicio al proceso de cariogénesis. ^(137,138)

Los azúcares fermentables especialmente la sacarosa ocupa el primer lugar en la pirámide en los niveles de carbohidratos que le permiten a estas bacterias una mayor adherencia a las superficies dentales, permitiendo la producción de ácidos que desmineralizan el esmalte. ⁽¹³⁷⁾

La sacarosa, formada por dos monosacáridos simples: la fructosa y la glucosa; se considera el más cariogénico, no sólo porque su metabolismo produce ácidos, sino porque el *Streptococcus mutans* lo utiliza para producir glucano, polisacárido extracelular, que le permite a la bacteria adherirse firmemente al diente, inhibiendo las propiedades de difusión de la placa.^(137,138)

Capítulo 3. Planteamiento del problema

Los microorganismos son parte de la vida. En muchos casos suelen ser benéficos para el organismo, siempre y cuando estén en equilibrio con el organismo. Gracias al avance de la tecnología han aparecido nuevos métodos para mantener el equilibrio en el organismo.

La caries dental, por ejemplo, siendo una de las enfermedades con mayor prevalencia, multifactorial, crónica y degenerativa nos muestra lo cual frágil puede ser la salud. Ha llegado al punto de ser una de las enfermedades con mayor frecuencia a nivel mundial y ser considerada como prioridad para organizaciones de salud. El consumo específico de alimentos altos en sacarosa crea un ecosistema favorable para bacterias altamente acidogénicas y adherentes como lo es el caso del *Streptococcus mutans*, siendo esta bacteria fundamental en la colonización de un número impreciso de bacterias las cuales únicamente empeoran la salud. Al mismo tiempo se ha descubierto nuevas formas de abordar el problema como son los nuevos azúcares como el Xilitol y la Stevia las cuales han demostrado propiedades antimicrobianas contra bacterias causantes de la caries. Por lo cual nos hacemos la pregunta.

¿Stevia y el Xilitol tienen acción antiadherente contra *Streptococcus mutans* causantes de la caries dental?

¿Stevia y el Xilitol fermenta en presencia del *Streptococcus mutans* causantes de la caries dental?

Capítulo 4. Objetivo

Comparar la fermentación y la adherencia de *Streptococcus mutans* en presencia de sacarosa, stevia y el xilitol *in vitro*.

Capítulo 5. Metodología

Muestra y universo de estudio

Tipo de estudio: Preexperimental in vitro.

Universo de estudio: Saliva basal de 50 alumnos del módulo Mecanismos Infecciosos y Respuesta Inmune (Laboratorio), del tercer año de la carrera de Cirujano Dentista de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza. Excluyendo a alumnos con tratamiento ortodóntico, con tratamiento antimicrobiano y alumnos que no deseen participar en el estudio.

Medios de cultivo previamente sembrados en el Laboratorio de Investigación en Odontología de la FES Zaragoza UNAM.

Variables

Variables dependientes

Variable	Definición	Nivel de medición	Operacionalización
<i>S. mutans</i>	Grado de infección adherencia del <i>S. mutans</i> en saliva.	Cualitativa Ordinal	No infectado Infección leve. Infección moderada. Infección severa. Infección muy severa.
Stevia	Edulcorante derivado de la planta <i>Stevia rebaudiana</i> .	Cualitativa Nominal	No fermentado. Fermentado.
Xilitol	Sustituto del azúcar derivado de frutas.	Cualitativa Nominal	No fermentado. Fermentado.
Sacarosa	Azúcar proteica.	Cualitativa Nominal	No fermentado. Fermentado.

Capítulo 6. Técnica

PRIMERA FASE:

Este trabajo se realizó en dos fases, en la primera que tuvo como propósito determinar la adherencia bacteriana en las tres sustancias de prueba Stevia, Xilitol y sacarosa; se inicio con 100 mililitros de caldo rojo fenol con Stevia, 100 mililitros de caldo rojo fenol con Xilitol y 100 mililitros de caldo rojo fenol con sacarosa (figura 1).

Se realizaron etiquetas con número y nombre de azúcar (figura 2).

Se pipeteo 2 ml de Caldo base Rojo Fenol y Sacarosa en 60 tubos, con 2 ml de Caldo base Rojo Fenol y Xilitol, 60 tubos con 2 ml de Caldo base Rojo Fenol y Stevia. (figura 3, 4, 5,)

A continuación realizó una suspensión bacteriana de *Streptococcus mutans* ATCC 23175 igualada al tubo número 2 del Nefelómetro de Macfarlán, posteriormente se sembraron 10 tubos de cada azúcar con 100 µl de la suspensión, se agitaron y pusieron a incubar a 45° de inclinación a 37° C por 24 hrs.

Transcurrido el tiempo se observó variación de color del caldo por efecto del cambio del pH, se anotaron los resultados en tablas diseñadas para este estudio.

Después de leer el cambio de color del caldo, se decantó el líquido en un matraz y se procedió al leer y registrar la adherencia de *S. mutans* a la superficie del tubo, aplicando las tablas de Criterios de Matsukubo y Col. (Cuadro 1).

SEGUNDA FASE:

Se utilizó saliva basal de 50 alumnos del tercer año de la Carrera de Cirujano Dentista que aceptaron participar en el estudio previa firma del consentimiento informado (Anexo1), todos los participantes acudieron a las 8 a.m. en ayunas y sin aseo bucal previo.

Se recolectaron bajo condiciones normales, aproximadamente 2 ml de saliva basal de cada alumno en tubos de ensayo estériles, etiquetados con número de control interno.

Todas las muestras se llevaron al Laboratorio de investigación en odontología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

En total fueron 50 tubos de ensayo de rojo fenol con Stevia, 50 tubos de ensayo de rojo fenol con Xilitol y 50 tubos de ensayo con sacarosa (figura 6, 7).

Para la cuantificación de colonias de bacterias se utilizó la técnica de Matsukubo y cols. Modificada, que consistió en inocular 100µl (figura 8) de saliva en tubos estériles con 2ml de caldo rojo fenol con cada una de las azúcares (Stevia, xilitol. sacarosa) por cada muestra de saliva, se incubaron por 24 horas a 36°C, con una inclinación de 45° para que se permitiera la adherencia de los microorganismos al tubo (figura 9). Transcurridas 24 horas (figura 10), se observó y anotó variación de color del caldo de rojo a amarillo, se decantó el caldo de los tubos en un matraz, se realizó el conteo de colonias adheridas al tubo con ayuda de una fuente de luz natural (figura 11) y de acuerdo con el número de colonias que se adhirieron al tubo, se asignó un valor con respecto a los siguientes criterios ya establecidos por los autores de la técnica:

Cuadro 1. Criterios de Matsukubo para el recuento de colonias en saliva.

Valor	Criterio	Niveles de infección
O	No aparecen colonias en la pared.	No infección
+	El número de colonias es menor a 10.	Infección leve
++	El número de colonias es mayor a 10 pero menor a 100.	Infección moderada
+++	El número de colonias es mayor a 100 pero menor a 350.	Infección severa
++++	El número de colonias es mayor a 350 colonias, observándose un aspecto de cristal nevado o vidrio esmerilado.	Infección muy severa



Figura 1. De derecha a izquierda frasco con 100 ml de rojo fenol con Stevia, frasco con 100 ml de rojo fenol con Sacarosa y frasco con 100 ml de rojo fenol con Xilitol.



Figura 2. Etiquetas de los tubos de ensayo de las diversas azucares utilizadas.

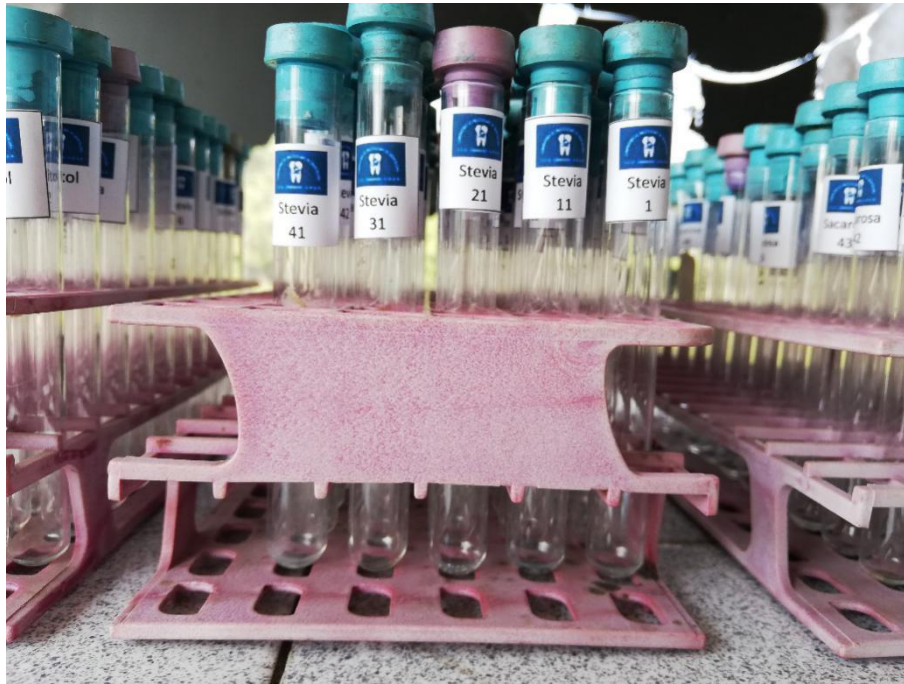


Figura 3. Tubos de ensayo estériles etiqueta Stevia.



Figura 4. Tubos de ensayo estériles etiqueta Xilitol.



Figura 5. Tubos de ensayo estériles etiqueta Sacarosa



figura 6. Tubos de ensayos con rojo fenol y su correspondiente azúcar.



Figura 7. 150 tubos de ensayo con sus respectivos azucres.



Figura 8. Se colocaron 100 microlitros de saliva por muestra en cada una de las tres azucres



Figura 9. Preparación a 45 ° de los tubos para la técnica de Matsukubo



Figura 10. 24 horas después de sembrar.



Figura 11. Revisión a contra luz natural de los tubos de ensayo para técnica de Matsukubo.

Capítulo 7. Resultados

Al analizar la **sacarosa** el 96% (48) de las muestras analizadas tuvieron el más alto nivel de infección de la prueba siendo la infección muy severa, 2 % (1) obtuvieron infección severa y el mejor de los casos el 2% (1) con infección moderada.

En comparación la **Stevia** obtuvo un 18% (9) obtuvieron infección severa, el 48% (24) con infección moderada, el 24% (12) con infección leve. No hubo infección en el 10% (5).

Por último, la el **Xilitol** obtuvo un 16% (8) con infección severa, el 60% con infección moderada, el 20% (10) con infección leve. No hubo infección en el 4% (2) cuadro 2.

Podemos observar el paralelismo de las dos azúcares, ambas redujeron las infecciones muy severas por completo. Tanto en **Stevia** y **Xilitol** no hay una infección severa, figura 12.

Cuadro 2 Porcentaje y frecuencia del grado de infección por edulcorante de prueba.

Niveles de infección	Sacarosa % n	Stevia % n	Xilitol % n
No infección		10 (5)	4 (2)
Infección leve		24 (12)	20 (10)
Infección moderada	2 (1)	48 (24)	60 (30)
Infección severa	2 (1)	18 (9)	16 (8)
Infección muy severa	96 (48)		

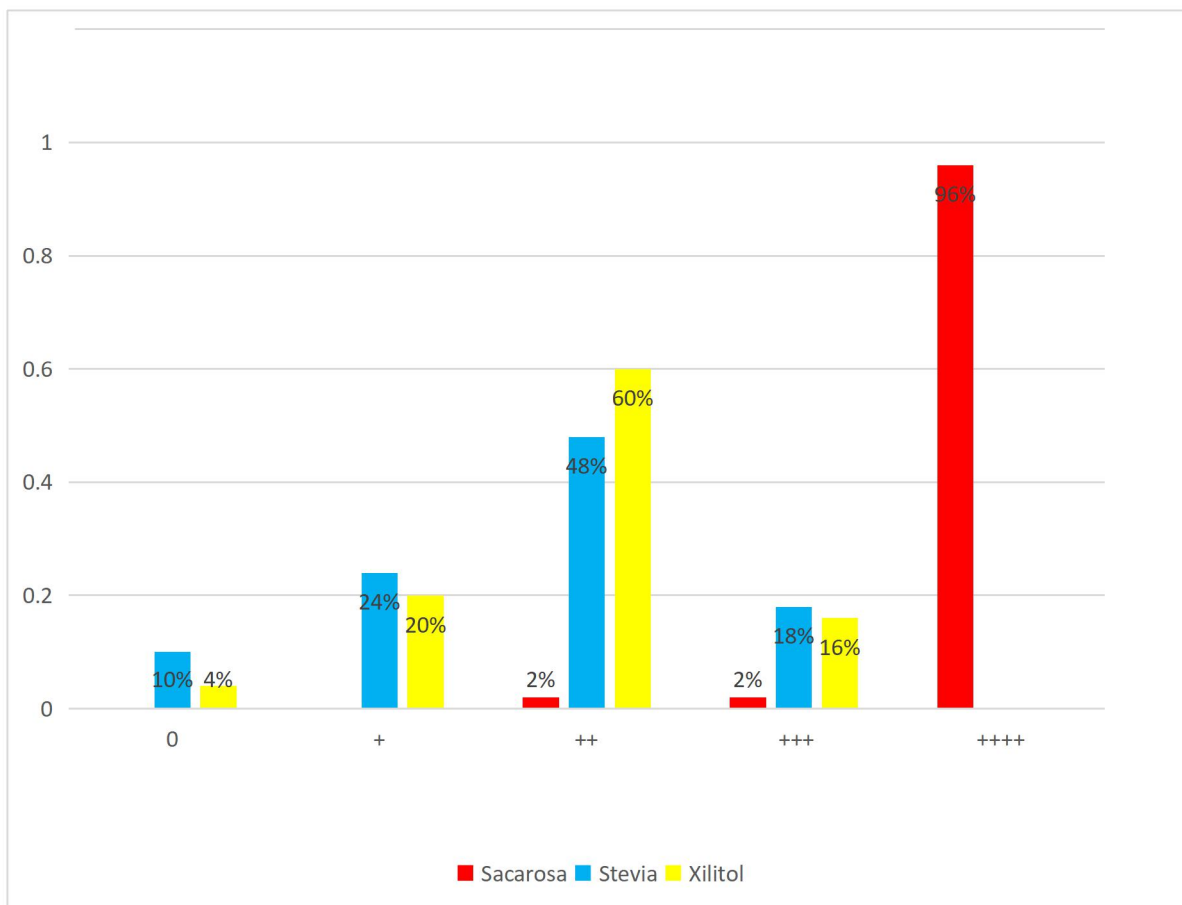


Figura 12. Porcentaje del grado de infección por edulcorante de prueba, comparativa.

Referente a los resultados de fermentación por ácidos las muestras en **sacarosa** fermentaron en 100%. Mientras las muestras de saliva con **Stevia** y el **Xilitol** no fermentaron.

Lo que nos muestran estos datos es que el uso de Stevia y Xilitol reducen la adherencia microbiana en las superficies. Mientras al no ser fermentables nos puede indicar que los microorganismos no pueden metabolizar. Podemos ver una clara disminución en ambos procesos, cuadro 3.

Cuadro 3 Porcentaje y frecuencia en fermentado de saliva basal.

	Sacarosa	Stevia	Xilitol
Fermentado	100% (50)		
No fermentado		100% (50)	100% (50)

Capítulo 8. Discusión

Al iniciar la investigación se consideraba a la microflora normal como un potencial peligro para la salud, sin embargo se observó que existe una compleja coexistencia entre los microorganismos y el ser humano capaces de ser benéfica para el organismo humano, pero con un frágil equilibrio.

Para este estudio se utilizó una solución creada a base de azúcares obtenidas comercialmente mientras en otras investigaciones purificaron hojas de Stevia como Avila y Julca utilizaron un extracto de fluido de hojas de *Stevia rebaudiana* Bertoni tiene efecto fúngico in vitro frente a *Candida albicans*. (163) mientras Guevara F y Muñoz J., en su investigación mostrando que extracto de Stevia no tiene efecto inhibitorio contra *Streptococcus mutans*. (164) En nuestra investigación usamos azúcares comerciales las cuales demostraron disminuir los niveles de infección.

Otros estudios asociaron los gramos entre el tiempo para mejorar la efectividad antimicrobiana como lo presentan en su estudio Tovar y Cupé determinaron que la Stevia y el Xilitol presentan alta actividad antimicrobiana; según las estadísticas a las 24 horas y a las 48 horas aumentan sus halos de inhibición, siendo Stevia con mayor actividad antimicrobiana frente a los *Streptococcus mutans*. (128) y Caceres mostró que extracto de *Stevia rebaudiana* a medida que aumenta la concentración mayor será su efecto antimicrobiano. (139) En nuestra investigación encontramos mejores características en la Stevia que en el Xilitol en un intervalo de 24 horas .

En nuestro estudio presentamos una eficacia superior en el Stevia , de igual forma como presentan Galindo y Martinez, en su investigación de edulcorantes, la mayor actividad inhibitoria lo presentó el extracto etanólico al 1,07 mg/ml de Stevia rebaudiana en etanol a 70°, frente a la solución acuosa a 1mg/ml en agua destilada de Xilitol sobre los microorganismos presentes en microflora mixta salival a las 24 horas. (140)

En otros estudios el Xilitol presenta una mayor efectividad antimicrobiana comparando contra otros azúcares como lo es el estudio de Melo L, demostrando una mayor eficacia del Xilitol en comparación con Schinus Molles al 50% contra *Streptococo mutans*. Mientras aumentaba los gramos de Xilitol- (141)

Algunos investigadores analizan las partes de la planta Stevia donde encontraron diferencias importantes, Morales y Peláez, encontraron en su investigación que los extractos de hoja de Stevia rebaudiana presentaron un 50 % de inhibición del crecimiento del hongo *F. oxysporum*, en comparación con los tratamientos de tallo y hoja agotada.(142) En este trabajo se investigaron las características enfocadas a la adherencia la cual disminuye en presencia de Stevia y Xilitol, rezando la colonización bacteriana.

El uso del xilitol es probado en productor como el chicle donde sus resultados son impresionantes, Terán y López, quienes demostraron que no hay un efecto antibacteriano significativo en las gomas de mascar que contenían Xilitol en una población estudiada. (142) En este estudio encontramos una disminución en la capacidad de producción de ácido del *S. mutans*,

Capítulo 9. Conclusiones

La presencia de colonias después de la exposición de Xilitol y Stevia demuestran: actividad bacteriostática.

Se observó una disminución en los grados de infección al usar los azúcares Stevia y Xilitol en comparación con la sacarosa al utilizar la técnica de Matsukubo. De la misma manera la falta de producción de ácidos nos podría indicar que las bacterias en las muestras de saliva son incapaces de sintetizar los azúcares.

Los múltiples beneficios estudiados de ambos azúcares Stevia y Xilitol; más sus propiedades bacteriostáticas y la disminución de ácido los hacen sustitutos de la azúcar común en pacientes con problemas de caries.

Bibliografía

1. Geo F, Brooks M, Karen C, Carroll M, Stephen A, Morse P. Microbiología médica. 25th ed. The McGraw-Hill; 2011.
2. Negroni M. Microbiología Estomatológica Fundamento y guía clínica. 2 ed. Buenos Aires: Médica panamericana; 2009.
3. Al-Jewair TS, Leake JL. The prevalence and risk of early childhood caries. J Contemp Dent Pract. 2010; 11(5): 01-8.
4. Correa M, Dissenha R, Weffort S. Salud Bucal del bebé al adolescente: guía de orientación para las embarazadas, los padres, los profesionales de salud y los educadores. 1 ed. Sao Paulo: Gen Santos Editora; 2009.
5. Pérez L, Ada G. La Biopelícula: una nueva visión de la placa dental. Rev. Estomatol Herediana. 2005; 15(1).
6. Liébana UJ, Prats PG. Microbiología Oral: MCGraw-Hill Interamericana; 2002.
7. Slavkin H. Primeros encuentros: transmisión de enfermedades infecciosas orales de madre a hijo. Ed Arg. 1997; 1(4): 62-8.
8. Castaño dCH, Dricas D, Mayochi K. Circuitos de infectividad bucal entre madre – hijo. Estudio sobre información materna y disposición al cambio. RAOA. 2003; 91(4): 305-10.
9. Aas J, Parche B, Stokes L, Olsen I, Dewhistn F. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. J Clin Microbiol. 2005; 43(11): 5721-32.
10. Osterholm M, Hedberg C, Moore K. Principiosepidemiológicos. In Mandell G, Bennett J, Dolin R. Enfermedades infecciosas.Principios y práctica. Buenos Aires: MédicaPanamericana; 2002. 191-206.
11. Linossier A, Valenzuela C, Soler E, Contreras E. Colonización de la cavidad oral por Streptococcus grupo mutans, según edad, evaluado en saliva por un método semi-cuantitativo. Rev. Chil. Infect. 2011; 28(3): 230-7.
12. Barberia L. Odontopediatria. 2nd ed.: Ed Masson; 2010.

- 13 . Thylstrup A, Burke F, Wilson N, Treveor BF, Mjor I. When Is Caries Caries, and What Should We Do About It?. 2005.
- 14 . Pérez L, Ada G. La Biopelícula: una nueva visión de la placa dental. Rev. Estomatol. Herediana. 2005; 15(1).
- 15 . Jaramillo CD. Fundamentos en Odontología. Odontología Pediátrica. 3rd ed. Medellín Colombia: Corporación para investigaciones biológicas; 2003.
- 16 . Berkowitz R. Mutans Streptococci: acquisition and transmission. J. Pediatric. 2006; 28: 106-9.
- 17 . Marsh P. Dental plaque as a microbial biofilm. Caries Res. 2004; 38(3): 204-11.
- 18 . Berkowitz R. Acquisition and transmission the Mutans Streptococci. Ontario Dentist. 2009 enero -febrero;: 24-27.
- 19 . Tanner A, Milgrom P, kent R, Mokeem S, Page R, tiedy C, et al. The Microbiota of Young Children from Tooth and Tongue Samples. JDR. 2002; 81(1): 53-57.
- 20 . Körber CF, Cornejo L, Giménez M. Early acquisition of strepto coccus mutans for children. Acta Odontol. 2005; 18(2): 69-74.
- 21 . Llena PC. The role of saliva in maintaining oral health and as an aid to diagnosis. Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal. 2006; 11: 449-55.
- 22 . Pérez L, G A. La Biopelícula: una nueva visión de la placa dental. Rev. Estomatol. Herediana. 2005; 15(1).
- 23 . Rotemberg E, Smaisik F. Inmunidad bucal en la primera infancia. Odontoestomatología. 2010; 12.
- 24 . Palomer L. Caries dental en el niño. Una enfermedad contagiosa. Rev Chil Pediatr. 2006; 77(1): 56-60.
- 25 . Henríquez D, Aquino E, Sepúlveda RR, Barra PM. Caries Temprana de la Infancia Severa: Impacto en la Calidad de Vida Relacionada a la Salud Oral de Niños Preescolares. Revista Dental de Chile. 2010; 101(2): 15-21.
- 26 . De Figueiredo WL, Ferelle A, Issao M. Odontología para el Bebé: Editorial Amolka; 200.
- 27 . Gusy M, Waters. Early Childhood Caries: Current evidence for a etiology and prevention. J of Pedia and Chil Heal. 2006; 42: 37-43.



- 28 . Berkowitz R. Mutans Streptococci: acquisition and transmission. *J. Pediatric. Dent.* 2006; 28: 106-109.
- 29 . Tanzer J M, Livingston J, Thompson A. The microbiology of primary dental caries in humans. *J Dent Educ.* 2001; 65: 1028-37.
- 30 . Mattos. Vela M, Melgar HR. Riesgo de caries dental. *Rev. Estomatol Herediana.* 2004; 14(1-2): 101 – 106.
- 31 . Ester RM. Estudio clínico epidemiológico de prevalencia de caries en niños de 0 a 30 meses y determinación de los factores de riesgo en una población de la ciudad de Berisso: UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA FACULDAD DE ODONTOLOGÍA; 2014.
- 32 . Bonecker M, Rocha R, Martins DRC. Cariologia cap. 7 En *Odontopediatria* de Guedes. In Pinto A, Bonecker M, Martins DRC.. Sao Paulo Brazil: Ed Santos; 2009.
- 33 . Basso M. Caries de la infancia temprana. *Rev. Cúspide Córdoba-Argentina.* 2002; 5(7): 14-25.
- 34 . Wan A, Seow W, Purdie D, Bird P, Walsh D, Tudehope I. Oral Colonization of *Streptococcus mutans* in Six-month-old Predentate Infants. *J Dent Res.* 2001; 80(12): 2060-5.
- 35 . Tinanoff N, O' Sullivan D. Early childhood caries: overview and recent findings. *Pediat Dent.* 1997; 19: 12-6.
- 36 . Emanuelsson IR, Thornqvist E. Genotypes of mutans streptococci tend to persist in their host for several years. *Caries Res.* 2000; 34(2): 133-9.
- 37 . Slavkin H. Primeros encuentros: transmisión de enfermedades infecciosas orales de madre a hijo. Ed Arg.Jada. 1997; 1(4): 62-8.
- 38 . Martinez PM, Rodriguez CA. Estudio de las cepas de streptococos del grupo mutans presentes en binomios madre-hijo. *Rev Fac Odontol UnivAntioq.* 2009; 21(2): p. 177-185.
- 39 . Behrendt A, Sziegoleit F, Müller-Lessman V, Ipek-Ozdemirb G, Wetzal W. Nursing-bottle syndrome caused by prolonged drinking from vessels with bill-shaped extensions. *ASDC J Dent Child.* 2001; 68(1): 47-50.
- 40 . Eley PM, Sorry M, Mason JD. *PERIODONCIA.* 6th ed. Madrid España: ELSEVIER; 2010.

- 41 . Serrano D, Herrera J. La placa dental como biofilm ¿cómo eliminarla? RCOE. ; 10: 131-9.
- 42 . Ábalos C. Adhesión bacteriana a biomateriales. Av. Odontoestomatol. 2005; 21(1): 347-53.
- 43 . Hernández P. Aplicaciones de las Lectinas. Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 1999; 155(9).
- 44 -. Figueroa-Gordon M, Alonso G, Acevedo A. Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión. Acta odontológica venezolana. 2009 enero; 47(1): 1-13.
- 45 . Costerton JW. Overview of microbial biofilms. J Ind Microbiol. 1995; 15: 137-40.
- 46 . Scheie AA, Petersen FC. The biofilm concept: consequences for future prophylaxys of oral diseases? Oral Biol Med. 2004; 15: 4-12.
47. Beighton D. The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. Community Dent Oral Epidemiol. 2005; 33: 248-255.
- 48 . Lingstrom P, van Ruyven FO, van Houte J, Kent R. The pH of dental plaque in its relation to early enamel caries and dental plaque flora in humans. J Dent Res. 2000; 79: 770-77.
- 49 . Miller W. The Micro-Organism of the Human Mouth. The Local and General Diseases Which are Caused by Them: Unaltered reprint from the original work by Miller., introductory essay by G.K. König (Nijmegen) Karger S, editor.; 1890.
- 50 . Davey M, Otoole G. Microbiol biofilms: from ecology to molecular genetics. Microbiol Mol Biol Rev. 2000; 64: 847-67.
- 51 . Ruiz A, Montiel JM, Almerich JM. Evaluation of caries risk in a young adult population. Med. Oral. Patol Oral. Cir. Bucal. 2007; 12(5): 410-18.
- 52 . Hayacibara MF, Koo H, Rosalen PL, Duarte S, Franco EM, Bowen WH, et al. Invitro and in vivo effects of isolated fractions of Brazilian propolis on caries development. J. Ethnopharmacol. 2005; 101(1-3): 110-5.
- 53 . Massoth D, Massoth G, Massoth IRL, Shi W, Hu C, Gu F. The effect of xylitol on Streptococcus mutans in children. J. Calif. Dent. Assoc. 2006; 34(3): 231-4.

- 54 . Montes M, García-Arenzana JM. Género Streptococcus: una revisión práctica para el laboratorio de microbiología. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2017; 25(3): 14-20.
- 55 . van Houte J. Role of Micro-organisms in Caries Etiology. *J Dent Res*. 1994; 73(3): 672-81.
- 56 . Becker M, Paster B, Leys E, Moeschberger M, Kenyon S, Galvin J, et al. Molecular Analysis of Bacterial Species Associated with Childhood Caries. *J Clin Microbiol*. 2002; 40(3): 1001-9.
- 57 . de Soet J, Nyvad B, Kilian M. Strain-related acid production by oral streptococci. *Caries Res*. 2000; 34: 480-90.
- 58 . Minah G, Loesche WJ. Sucrose metabolism by prominent members of the flora isolated from cariogenic and non-cariogenic dental plaques. *Infection and Immunity*. 1977; 17: 55-61.
- 59 . Gibbons R, Socransky S. Intracellular polysaccharide storage by organisms in dental plaques. *Arch Oral Biol*. 1962; 7: 73-80.
- 60 . Loesche WJ. Role of Streptococcus mutans in human dental decay. *Microbiol Rev*. 1986; 50: 353-80.
- 60 . Fitzgerald R, Keyes P. Demonstration of the etiologic role of streptococci in experimental caries in the hamster. *JADA*. 1960; 61: 9-19.
- 61 . Arneberg P, Ôgaard B, Scheie A, Rôlla G. Selection of Streptococcus mutans and Lactobacilli in an Intra-oral Human Caries Model. *J Dent Res*. 1984; 63(10): 1197-1200.
- 62 . Hoshino E, Horigome T, Kagawa R, Kaketa A, Okuda R. Species identification of Lactobacillus, Bifidobacterium and Actinomyces isolated from human carious dentine. *Jpn J Oral Biol*. 1984; 26: 496-501.
- 63 . Berkowitz R. Etiology of nursing caries: a microbiologic perspective. *J Public Health Dent*. 1996; 56: 51-54.

- 64 . Kohler B, Andreen L, Jonsson B. The earlier the colonization by mutans Streptococci, the higher the caries prevalence at 4 years of age. *Oral Microbiol Immunol.* 1988; 3: 14-17.
- 65 . van Houte J, Gibbs G, Butera C. Oral flora of children with "nursing bottle caries". *J Dent Res.* 1982; 61: 382-5.
- 66 . Brailsford S, Shah B, Simons D, Gilbert S, Clark D, Ines I, et al. The Predominant Aciduric Microflora of Root-caries Lesions. *J Dent Res.* 2001; 80(9): 1828-33.
- 67 . Loesche W, Straffon L. Longitudinal investigation of the role of *Streptococcus mutans* in human fissure decay. *Infect Immun.* 1979; 26: 498-507.
- 68 . Kleinberg I. A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to *Streptococcus mutans* and specific-plaque hypothesis. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002; 13: 108-25.
- 69 . Okada M, Soda Y, Hayashi F, Doi T, Suzuki J, Miura K, et al. PCR detection of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in dental plaque samples from pre-school children. *J Med Microbiol.* 2002; 51: 443-7.
- 70 . Lindquist B, Emilson C. Dental location of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in humans harbouring both species. *Caries Res.* 1991; 25: 146-52.
- 71 . Brailsford S, Sheehy E, Gilbert S, Clark D, Kidd E, Zoitopoulos , et al. The microflora of the Erupting First Permanent Molar. *Caries Res.* 2005; 39: 78-84.
- 72 . González SÁM, González NBA, González NE. Salud dental: relación entre la caries dental y el consumo de alimentos. *Nutr Hosp.* 2013; 28(4): 64-71.
- 73 . González SA, González NB, González NE. La odontología social, un deber, una Social FO, editor. Sevilla; 2012.
- 74 . Kennet M, Cohen S. Cohen Vias de la pulpa. 11th ed. Louis H, editor. Madrid: Elsevier Mosby; 2011 pulpa, Cohen Vias de la.

- 75 . Paes LAF, Koo Hb, Bellato CM, Bedi G, Cury JA. The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation - New insight. *Journal of Dental Research*. 2006; 85(10): 878-887.
- 76 . Robert , Selwitz H, D DI, I. Nigel B, Pitts B. Dental caries. *The Lancet*. 2007; 369(9555): 51-59.
- 77 . Takahashi , Nyvad N, B.. Caries Ecology Revisited: Microbial Dynamics and the Caries Process. *Caries Res*. 2008; 42: 409-418.
- 78 . Keyes P. Research in dental caries. *JADA*. 1968; 76: 1357-73.
- 79 -97. Bortowski Rosa Leites AC, Bueno Pinto M, Rolim de Sousa E. ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DA CÁRIE DENTAL. *Salusvita*. 2006; 25(2): 239-252.
- 80 . WHO. World Oral Health Report 2003 WHO; 2003.
- 81 . Incidence CG2DaI. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 328 diseases and injuries for 195 countries, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*. 2017; 390(10100): 1211-1259.
- 82 . Burt B, Albino J, Carlos J, Cohen LK. Advances in the. *Adv Dent Res*. 1989; 3(1): 30-41.
- 83 . Padilla SBE, Llodra CJC, Belío RIA, García JRA, Osuna RI, Ramírez ÁM, et al. Predicción de riesgo de caries en escolares del noroeste de México: estudio longitudinal. *Revista de Investigación Clínica*. 2013 enero-febrero; 65(1): 24-9.
- 84 . Loyola RJ, Martinez MR, Flores FB, Patiño MN, Alpuche SA, Reyes MJF. Distribution of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in saliva of Mexican preschool caries-free and caries-active children by microbial and molecular. *J Clin Pediatr Dent*. 2008; 32(2): 121-6.
- 85 . Villalobos RJ, Medina SC, Molina FN, Vallejos SAA, Pontigo LAP, Espinoza BJL. Dental caries in schoolchildren aged 6-12 years in Navola to, Sinaloa, México: experience, prevalence, severity and treatment needs. *Biomedica*. 2006; 26(2): 224-33.

- 86 . FDI-WHO. Changing patterns of oral health and implications for oral health manpower: Part I. Report of a working group. *Int Dent J.* 1985; 35: 235-51.
- 87 . Burt B. Prevention policies in the light of changed distribution of dental caries. *Acta Odontol Scand.* 1998; 56(3): 179-86.
88. González H, Brand S, Diaz F, Farfan M, Gonzalez V, Rangel W, et al. Prevalencia de caries rampante en niños atendidos en el Centro Odontopediátrico Carapa, Antímano, Venezuela. *Rev Biomed* 2. 2006; 17: 307-310.
89. Aguilera GLA, Padilla BP, Aguilar RR, Frausto SE, Aceves MMDC, Salaiques GEAE. Niveles de *Streptococcus mutans* y prevalencia de caries dental en una población de escolares de la zona urbana de la ciudad de Zacatecas. *ADM.* 2004 mayo-junio; 61(3): 85-91.
90. Oral Health Programme. Division of noncommunicable. World Health Organization. 1997.
91. Katayama , Sumnida O, Hayashi T, Mitsuhashi H, H. he practical application of Stevia and research and development data Tokyo: I.S.U. Company; 1976.
92. Soejarto DD, Kinghorn AD, Farnsworth NR. Potential Sweetening Agents of Plant Origin. III. Organoleptic Evaluation of Stevia Leaf Herbarium Samples For Sweetness''. *Journal of Natural Products.* 1982; 45(5): 590-599.
93. Soejarto DD, Compadre CM, Medon PJ, Kamath SK, Kinghorn AD. Potential sweetening agents of plant origin. II. field search for sweet-tasting Stevia species. *Economic Botany.* 1983; 37(1): 71-79.
94. Lee JI, Kang KK, Lee UE. Studies on new sweetening resource plant stevia (*Stevia rebaudiana* Bert.) in Korea. I. Effects of transplanting date shifting by cutting and seeding dates on agronomic characteristics and dry leaf yields of stevia. *ORD''.* 1979; 21: 171–179.
95. Donalisio , M GRD, F RP, Souza A, C J. *Stevia rebaudiana''.* *Agronomico.* 1982; 34: 65–68.

96. Kinghorn AD, Soejarto DD. Current status of stevioside as a sweetening agent for human use”. In Wagner , Hikino H, Norman H, R. , editors. Economic and Medicinal Plant Research. Orlando: Academic Press; 1985. 1-52.
97. Misra SH, Silawat M, Mehta N, Mehta D, Jain , D C. “Antidiabetic activity of medium-polar extract from the leaves of Stevia rebaudiana Bert. (Bertoni) on alloxan-induced diabetic rats”. Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences. 2011; 3(2): 242-248.
98. Vázquez , B LR, P AM, L AC, M V. “Micropropagación de Stevia rebaudiana Bertoni y detección de steviósidos. Bioagro. 2014; 26(1): 49-56.
99. Jiménez , Cabrera T, Álvarez G, Gómez E, F.. Evaluación del contenido de esteviósido y rebaudiósido A en una población de Stevia rebaudiana Bertoni (kaâ heê) cultivada comercialmente. emorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud. 2010; 8(1): 47-53.
100. Marcavillaca MC. Micropropagación in vitro de Stevia rebaudiana Bertoni por medio de segmentos nodales y meristemas. 9th ed. Argentina: Sociedad Argentina para la Investigación de Productos Aromáticos; 1984.
101. Tadhani MB, Patel V, Subhash HR. In vitro antioxidant activities of Stevia rebaudiana leaves and callus. Journal of Food Composition and Analysis. 2007; 20(3-4): 323-329.
102. Tovar-Huaynate G, Cupé-Araujo AC. ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LA STEVIA EN COMPARACIÓN CON EL XILITOL, FRENTE A LOS STREPTOCOCCUS MUTANS – UN ESTUDIO IN VITRO. OACTIVA UC. 2016 Mayo-Agosto; 1(2).
103. Nayak P, Nayak U, Khandelwal V. The effect of xylitol on dental caries and oral. Clin Cosmet Investig Dent. 2014; 6: 89–94.
104. Pereira F, Silva T, Silva Td, Caldana M, Bastos J, Buzalaf M. Xylitol concentrations in artificial saliva after application of different xylitol dental varnishes. J Appl Oral Sci. 2012; 20(2): 146–50.

105. Eskandarian T, Motamedifar M, Arasteh P, Eghbali S, Adib A, Abdoli Z. Comparison of antimicrobial effects of titanium tetrafluoride, chlorhexidine, xylitol and sodium fluoride on streptococcus mutans: An in-vitro study. *Electron physician*. 2017; 9(3): 4042–7.
106. Xylitol - Polioles. 03 de setiembre del 2018.
107. CRACX (Sweet for health spirit). Xylitol. *EFSA Journa*. 2008; 6: 852.
108. Guzmán A. ¿Qué es el Xilitol? Clínica dental Málaga Avilés y Román. 2013: 1.
109. Guzmán A. ¿Qué es el Xilitol? Clínica dental Málaga Avilés y Román. 2013;(1).
110. Ramírez K, Rojas O, Alvarado P, Vega-Baudrit J. Obtención de xilosa a partir de desechos lignocelulósicos de la producción y proceso industrial de la piña (ananascomusus) xylose from lignocellulosic waste in the production and industrial processing. *Uniciencia*. 2012; 26: 75–89.
111. Tamanini C, Haully C. Resíduos agroindustriais para produção biotecnológica de xilitol. *Semin Ciências Agrárias*. 2004 315–30; 25(4).
112. Sciencelab.com Inc. Material Safety Data Sheet -D-Xylitol MSDS. Texas; 2010. .
113. Gonzáles-Hernández J, Alvarez-Navarrete M, Ornelas L, Zamudio M. Producción y aplicaciones Biotecnológicas del Xilitol. *BioTecnología-Tecnología*. 2011; 15(2).
114. Vallejos M, Area M, Chade M, Medvedeff M, Felissia F. Producción. *UNAM*. 2013 Abril; 1: 1-5.
115. Bosquez R. La prevencion de la caries dental a traves del uso de xilitol. Universidad de guayaquil. 2013.
116. Rao R, Prakasham R, Prasad K, Rajesham S, Sarma P, Rao LV. Xylitol production by *Candida* sp.: parameter optimization using Taguchi approach. *Process*. 2004; 39(8): 951–6.

117. Carvalho WSSSJCA. Xilitol production by ca-alginate entrapped cells: comparison of different fermentation systems. *Enzyme Microb Technol.* 2003; 32: 553–9.
118. Panesso E, Calle M, Meneses E. Salud bucal y xilitol : usos y posibilidades en. *Rev Univ salud.* 2012; 14(2): 205–15.
119. Bravo G, Aguirre N, Bahamonde H. Xilitol y prevención de otitis media aguda. *Rev Otorrinolaringol y Cirugía Cabeza y Cuello.* 2012; 72: 97–102.
120. Mickenautsch S YV. Effect of xylitol versus sorbitol: A quantitative. *Int Dent J.* 2012; 62(4): 175–88.
121. Lee S, Choi B, Kim. Y J. The cariogenic characters of xylitol-resistant and xylitol sensitive *Streptococcus mutans* in biofilm formation with salivary bacteria. *Arch Oral Arch Oral.* 2012; 57: 697–703.
122. Hirsch G, Edelstein B, Frosh M, T A. A Simulation Model for Designing Effective Interventions in Early Childhood Caries. *Prev Chronic Dis.* 2012; 9(1): 1 –9.
123. Anderson M. Chlorhexidine and xylitol gum in caries prevention. *Spec care Dent.* 2003;: 173–6.
124. Söderling E. Controversies around Xylitol. *Eur J Dent.* 2009; 3(2): 81-2.
125. Vongsavan K, Surarit R, Rirattanapong P. The combined effect of xylitol and fluoride in varnish on bovine teeth surface microhardness. *Southeast Asian J Trop Med Public Heal.* 2014; 45(2): 505–10.
126. Ghiraldini B, Furushima E, Casarin RCV, Villalpando KT, Pimentel SP, Cirano F. Effect of cetylpyridinium chloride with xylitol on the formation of biofilm and development of gingivitis. *Braz J Oral Sci.* 2012; 11(3): 1-4.
127. Cobos CVEAM. Influencia de un enjuague a base de fluoruro y xilitol en la remineralización in vitro del esmalte en dientes temporales. *Rev Odont Mex.* 2006; 17(4): 204–9.
128. Murthykumar K. The Impact of Milk with Xylitol on Dental Caries A Review. *J Pharm Sci Res.* 2013 Abril; 5(9): 178–80.



129. Alves FRF, Neves , M.A.S , Silva MG, Rôças IN, Siqueira JF. Antibiofilm and antibacterial activities of farnesol and xylitol as potential endodontic irrigants. *Braz Dent J.* 2013; 24(3): 224–9.
130. Leepel L, Sastra S, Puspitawati R, Bachtiar B. Effect of xylitol with various concentration and duration on the growth of candida albicans (in vitro study). *Indones J Dent.* 2009; 6(1): 72–6.
131. Mäkinen KK. Sugar Alcohol Sweeteners as Alternatives to Sugar with Special Consideration of Xylitol. *Med Princ Pr.* 2011; 20: 303–20.
132. CDA. Xylitol - El endulzador que ayuda a prevenir las caries. Sacramento. .
133. Riley P, Moore D, Ahmed F, Sharif M, Worthington H. Xylitol and caries prevention. *Evid Based Dent.* 2015; 16(2): 37–8.
134. CDA. Xylitol - El endulzador que ayuda a prevenir las caries. Sacramento; 2014.
135. Park E, Na H, Kim S, Wallet S, Cha S, Chung J. Xylitol, an Anticaries Agent, Exhibits Potent Inhibition of Inflammatory Responses in Human THP-1-Derived Macrophages Infected With Porphyromonas gingivalis. *J Periodontol.* 2014; 85(6): 212–23.
136. Campus G, Cagetti M, Sale S, Petruzzi M, Solinas G, Strohmenger L. Six months of high-dose xylitol in high-risk caries subjects--a 2-year randomised, clinical trial. *Clin Oral Invest.* 2013; 17: 785–91.
137. Avila PAG, Julca MAVR. Parametros de calidad del extracto fluido de las hojas de Stevia rebaudiana Bertoni y efecto antifúngico in vitro frente a Candida albicans. Universidad Nacional de Trujillo. 2015.
138. Guevara FEL, Muñoz MJE. Análisis del efecto inhibitorio de stevia en diferentes concentraciones sobre streptococcus mutans, estudio in vitro. universidad central del ecuador. 2017 abril.
139. Caceres LNJ. Efecto antimicrobiano in vitro del extracto de stevia rebaudiana sobre el streptococcus mutans, puno-2017. universidad nacional del altiplano. 2017.

140. GALINDO GMF, MARTÍNEZ CEE. Actividad inhibitoria de la Stevia rebaudiana y Xilitol sobre flora mixta salival. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2018.

141. Melo-pazmiño cp. efectividad de inhibición de la fusión entre el xilitol y el aceite esencial del schinus molle al 50% sobre el streptococo mutans. estudio in vitro. universidad central del ecuador. 2007 Septiembre.

142. Morales olt, Peláez jca. Actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto vegetal obtenido de un cultivo comercial de stevia rebaudiana ubicado en olaya (antioquia). universidad del tolima. 2017.

Anexos





Consentimiento informado

Usted ha sido invitado (a) a participar en el trabajo de investigación que lleva por nombre: “Comparación de la fermentación y adherencia de *Streptococcus mutans* en presencia de Sacarosa, Xilitol y Stevia in vitro”.

El objetivo de este trabajo es comparar la fermentación y adherencia de *Streptococcus mutans* en presencia de diferentes azúcares como Sacarosa, Xilitol y Stevia.

La población de estudio estará conformada por estudiantes que cursan el 3er año de la carrera de Cirujano Dentista de la FES Zaragoza, a los que se les pedirá no hacer el cepillado dental matutino en su casa y acudir en ayuno. Estando en su grupo correspondiente se les solicitará que colecten 2 ml de saliva en tubos de ensayo estériles. Este trabajo lleva unos criterios de inclusión, así como de exclusión y que son los siguientes:

Inclusión

- Estudiantes de la Carrera de Cirujano Dentista que deseen participar en el estudio.

Exclusión

- Estudiantes que presenten enfermedad infecciosa.
- Estudiantes con tratamiento de ortodoncia.
- Estudiantes que no cumplan el ayuno de la hora.

Es importante que el participante sepa que no se solicitará ni usará información personal, y que esta participación no tendrá ningún costo para el participante.

Enterado (a) y una vez comprendida la información, manifiesto libre y sin presión alguna mi deseo de participar en el estudio.

Nombre y firma

